

FACULTÉ DE PHARMACIE

Etude de la répartition
de quelques éléments
dans les Champignons

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 21 décembre 1934

PAR

Robert GRANGER

Pharmacien

Licencié ès sciences physiques

Préparateur à la Faculté de Pharmacie

Prix « Massol » (1932)

Lauréat de la Faculté de Pharmacie

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION PHARMACIE)

JURY

(MM. MOUSSERON, professeur, président.	
ASTRUC, professeur.	Assesseurs
CANALS, professeur.	

IMPRIMERIE MARI-LAVIT
1, RUE DE SAUVAGES, 1

1934

ETUDE DE LA REPARTITION
DE QUELQUES ELEMENTS
DANS LES CHAMPIGNONS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Etude de la répartition
de quelques éléments
dans les Champignons

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

décembre 1934

PAR

Robert GRANGER

Pharmacien

Licencié ès sciences physiques

Préparateur à la Faculté de Pharmacie

Prix « Massol » (1932)

Lauréat de la Faculté de Pharmacie

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(MENTION PHARMACIE)

JURY	{	MM. MOUSSERON, professeur, présidence.	{	Assesseurs.
		ASTRUC, professeur.		
		CANALS, professeur.		

IMPRIMERIE MARI-LAVIT

1, RUE DE SAUVAGES, 1

—
1934

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

FONZES-DIACON (*, I. P. ☼, O. ☼) . Doyen.
P.-J. TARBOURIECH (*, I. P. ☼) Assesseur.
LEBLAYE (A. ☼) Secrétaire.

PROFESSEURS

MM.

FONZES-DIACON (*, I. P. ☼, O. ☼) ..	<i>Chimie minérale.</i>
A. ASTRUC (O. *, I. P. ☼)	<i>Pharmacie galénique et industrielle.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☼)	<i>Zoologie et microbiologie.</i>
P.-J. TARBOURIECH (*, I. P. ☼)	<i>Chimie organique.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼)	<i>Botanique et matière médicale.</i>
A. FAUCON (O. *, I. P. ☼, ☼, C. ☼, G. O. ☼)	<i>Pharmacie chimique.</i>
E. CUNALS (I. P. ☼)	<i>Physique.</i>
M. MOUSSERON	<i>Chimie analytique et toxicologie.</i>

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (*, I. P. ☼, ☼)

PROFESSEUR HONORAIRE

M.

F. JADIN (O. *, I. P. ☼), Doyen hon. de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

CHARGÉS DE COURS

MM.

FONZES-DIACON (*, I. P. ☼, O. ☼) ..	<i>Toxicologie.</i>
A. ASTRUC (O. *, I. P. ☼)	<i>Hydrologie.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☼)	<i>Zoologie.</i>
F.-J. TARBOURIECH (*, I. P. ☼)	<i>Chimie biologique.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼)	<i>Botanique.</i>
A. FAUCON (O. *, I. P. ☼, ☼, C. ☼, G. O. ☼)	<i>Fonctions en chimie organique.</i>
MOYE, Doyen honoraire Faculté de Droit (*, I. P. ☼)	<i>Législation pharmaceutique.</i>

AGRÉGÉ

M. P. JAULMES, chargé d'Agrégation

CHEF DES TRAVAUX PRATIQUES

L. FARRÉ (I. P. ☼)	<i>Chimie et Pharmacie.</i>
DAUBIAN DELISLE (*, I. P. ☼)	<i>Physique.</i>
SUSPLUGAS	<i>Histoire naturelle.</i>

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui sont présentées.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Mort au champ d'honneur le 1^{er} mai 1916

Chevalier de la Légion d'Honneur

R. G.

A MA MERE

*Faible témoignage de ma très vive
affection et de ma profonde recon-
naissance.*

A MES GRANDS-PARENTS

A TOUS LES MIENS

R. G.

A MON PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR MOUSSERON

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ASTRUC
Correspondant national de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CANALS

A TOUS MES MAITRES

R. G.

AVANT-PROPOS

Avant de faire ici l'exposé de mes travaux, qu'il me soit permis d'offrir à mes Maîtres des Facultés de Pharmacie et de Sciences l'hommage de ma respectueuse reconnaissance. Pendant quatre années, j'ai pu apprécier leur dévouement et leur sollicitude et, soutenu par leur exemple, la tâche m'a paru plus facile à accomplir et les difficultés moins dures à surmonter.

A Monsieur le Professeur MOUSSERON, j'adresse mes remerciements les plus sincères. Accueilli dans son laboratoire avec la plus grande bienveillance, j'ai trouvé, auprès de ce Maître, une direction sûre et des encouragements constants.

Ayant déjà fait de nombreuses recherches sur le sujet que je présente aujourd'hui, Monsieur le Professeur MOUSSERON m'a autorisé à poursuivre ces travaux et c'est grâce à ses conseils que j'ai pu les mener à bonne fin. Je lui en exprime toute ma gratitude et je garderai précieusement le souvenir des deux années passées près de lui.

Je prie Monsieur le Professeur ASTRUC d'agréer l'expression de ma reconnaissance pour l'honneur

qu'il me fait aujourd'hui en siégeant à mon jury de thèse ; je n'oublierai pas non plus qu'il a mis aimablement sa bibliothèque à ma disposition et que j'ai pu y puiser des renseignements précieux.

Mes sentiments de vive gratitude vont aussi à Monsieur le Professeur CANALS qui a accepté, lui aussi, de faire partie de ce jury, me donnant ainsi une nouvelle preuve de la sympathie et de la bienveillance qu'il m'a témoignée en toute occasion.

INTRODUCTION

Tout organisme vivant, végétal ou animal, est un milieu complexe où entrent à des teneurs diverses, sous des formes différentes, à l'état ionisé ou condensés en lourdes molécules, les éléments chimiques.

D'abord à peine connus, ces principes immédiats ont peu à peu été mis en évidence par de nombreux chimistes : DE SAUSSURE, LIEBIG, SACHS, BOUSSINGAULT, G. VILLE, PASTEUR, RAULIN. Les chercheurs se sont attachés, non seulement à reconnaître ces corps, mais à voir les rapports qu'ils avaient entre eux et la nécessité qu'ils représentaient pour l'organisme dont ils étaient partie constituante.

Primitivement réduit à quatre : carbone, hydrogène, oxygène, azote, le nombre des éléments s'accroît rapidement. Le soufre et le phosphore s'ajoutent à cette liste que le progrès incessant des techniques analytiques rend de plus en plus imposante. Alors que BUNGE, il y a une trentaine d'années, ne signalait dans la cellule vivante que 13 éléments, on peut aujourd'hui déceler et souvent même doser parmi les 90 corps simples connus, 30 de ceux-ci.

Mais tous ces éléments empruntés au milieu extérieur, atmosphère et substratum solide ou liquide,

présentent-ils le même intérêt pour le végétal ? On sait, en effet, que la plante peut absorber, en dehors des principes qui lui sont nécessaires, d'autres qui lui sont inutiles et qui peuvent parfois même lui être nuisibles.

La méthode analytique a fait ressortir la grande différence existant entre les masses des divers corps simples rencontrés, mais la méthode synthétique était indispensable pour montrer les rôles très dissemblables que jouent ces éléments dans la vie du végétal.

Cette dernière méthode, qui consiste à remplacer le milieu naturel dans lequel vit normalement la plante par un substratum artificiel de composition parfaitement déterminée dans lequel on fera varier la teneur de l'élément dont on désire déterminer la valeur biologique, a permis à BERTRAND de diviser, selon leur mode d'action, les corps simples rencontrés dans les végétaux en éléments plastiques et en éléments catalytiques.

Les éléments plastiques sont ceux qui interviennent par leur grande masse dans l'édification même des tissus de l'organisme ; ils représentent, à moins de 1 pour 1000 près la totalité du poids de la plante vivante et, en raison de leur abondance, ils ont été les premiers reconnus dans les végétaux. Ce sont l'oxygène et l'hydrogène qui, sous forme d'eau, constituent la majeure partie de la plante ; le carbone entrant avec les deux précédents dans un grand nombre de substances ternaires telles que celluloses et sucres ; l'azote, le phosphore et le soufre sont généralement renfermés dans les molécules organiques complexes du protoplasme et du noyau ; enfin, le silicium, le chlore, le potassium, le sodium, le calcium et le magnésium se trouvent sous forme de composés minéraux, mais parfois aussi organiques.

Alors que ces éléments se rencontrent dans les plantes en proportions élevées, d'autres n'ont pu y être décelés qu'à l'état de traces. Les physiologistes avaient d'abord admis que ces derniers, introduits accidentellement dans le végétal, n'étaient pas indispensables à la vie de la plante. Depuis, leur très grande importance a été reconnue, on leur a donné le nom d'éléments catalytiques afin de rappeler leur action comparable à celle des catalyseurs dans certaines réactions chimiques.

Le premier, RAULIN (1) a pu mettre en évidence ce rôle particulier joué par le zinc sur la végétation de l'*Aspergillus niger* ; il montra qu'à la dose de 1/100.000^e ce métal augmentait encore sensiblement la récolte. JAVILLIER (2) perfectionnant les méthodes de travail a prouvé que cette action favorable se manifestait encore à la dilution de 1/50.000.000^e ; mais plus extraordinaires sont les belles recherches de BERTRAND et JAVILLIER (3) qui sont parvenus à montrer que le manganèse influençait la végétation de l'*Aspergillus niger* à la concentration de 1/10.000.000.000.

Depuis, d'autres éléments ont été trouvés en quantités extrêmement réduites dans les plantes en même temps que leur rôle de catalyseur a pu être mis en évidence : tels sont l'arsenic, le bore, le cuivre, le fer, le nickel, le cobalt, etc.

Cependant, il ne semble pas exister de limites bien nettes entre les éléments plastiques et les éléments catalytiques. Ainsi CANALS (4) a remarqué que, si le ma-

(1) J. RAULIN. — Thèse Sciences, Paris 1870.

(2) M. JAVILLIER. — Thèse Sciences, Paris, 1908.

(3) G. BERTRAND et M. JAVILLIER. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1912, t. 11, p. 212.

(4) E. CANALS. — *Thèse Sciences, Paris* 1920.

gnésium, en raison des proportions importantes dans lesquelles il se rencontre dans les végétaux est admis comme élément plastique, ce métal, pouvant agir à de très grandes dilutions sur le développement des Champignons inférieurs, doit être surtout considéré comme un élément catalytique ; cet auteur a montré aussi son rôle dans l'action hydrolysante de la sucrase (5). De même, le calcium élément plastique, possède, selon BERTRAND et MALLÈVRE (6), un rôle catalytique dans la fermentation pectique.

Mais si aujourd'hui on sait reconnaître assez facilement la valeur plastique ou catalytique des éléments, l'étude de la répartition des divers corps simples dans les végétaux, bien que largement amorcée est encore loin d'être complète.

Depuis longtemps, on avait remarqué que la quantité de cendres fournie par un végétal et la répartition des éléments chimiques dans celles-ci étaient sensiblement les mêmes pour des individus d'une même espèce prélevés dans des lieux différents. En effet, à propos de la fixité de la composition des cendres, MALAGUTI et DUROCHER (7) écrivent : « Il y a, il est vrai, de fréquentes irrégularités se rattachant à des causes diverses, notamment à l'inégale composition des sols qui servent de support et de magasin d'approvisionnement pour les plantes, néanmoins chaque type végétal doit offrir, dans l'organisation de son tissu, un ensemble de principes minéraux dont les rapports sont susceptibles de varier dans certaines

(5) E. CANALS. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1922, t. 31, p. 921.

(6) BERTRAND et MALLÈVRE. — *C. R. Ac. Sc.* 1894, t. 119, p. 1012 et 1895, t. 120, p. 110.

(7) MALAGUTI et DUROCHER. — *Ann. Chim. Phys.* (3) 1858,

limites, mais tendent à se rapprocher d'une composition normale, c'est-à-dire telle qu'elle convienne le mieux à son développement, et qu'elle représente la moyenne des compositions des individus semblables qui se sont produits dans les circonstances ordinaires. »

Il n'en est plus de même lorsque l'on compare des individus appartenant à des espèces différentes et THÉODORE DE SAUSSURE (8) avait déjà cherché à expliquer pourquoi des végétaux de même poids fournissaient, selon leur espèce, une quantité de cendres variable. MALAGUTI et DUROCHER avaient pensé que les diverses plantes qui appartiennent à une même famille devaient présenter, dans la composition de leurs cendres, quelques analogies, tout comme elles possédaient entre elles des affinités botaniques. Se basant sur ce principe, ils établirent pour chaque famille une composition moyenne des cendres et comparèrent la richesse en éléments minéraux des diverses familles du monde végétal. Leur très vaste étude porte sur la plupart des Dicotylédones et des Monocotylédones, mais se limite pour les « Acotylédones » à l'étude des Fougères.

Depuis cette époque, un très grand nombre d'analyses de plantes entières ou de parties de plantes appartenant à tous les groupes systématiques a été effectué. On a d'abord dosé les éléments plastiques puis plus récemment et grâce aux techniques modernes de microdosage, les éléments catalytiques ; cependant la plupart de ces travaux concernent les Phanérogames et les Cryptogames vasculaires, les Thallo-

(8) TH. DE SAUSSURE. — Recherches sur la végétation, p. 272.

phytes et, tout particulièrement les Champignons n'ayant pas été aussi favorisés.

Dans les Champignons, les dosages des éléments plastiques remontent, pour la plupart, à une époque où les techniques analytiques, trop souvent en défaut, ne donnaient aux auteurs que des résultats plus ou moins erronés et auxquels on ne peut attribuer, aujourd'hui, qu'une valeur relative. Il n'en est plus de même des éléments catalytiques dont les méthodes de recherche et de microdosage sont récentes et dont les applications en biologie ne datent que de quelques années. Mais, si on peut considérer comme rigoureusement exacts ces résultats, ils sont en nombre fort restreint et de nombreuses analyses sont encore nécessaires.

En résumé, l'étude de la répartition des éléments chimiques dans les Champignons peut être considérée comme à peu près inexistante. C'est pourquoi il nous a paru très intéressant de doser dans des végétaux aussi semblables entr'eux par leur forme, leur taille, leurs caractères anatomiques et leur développement rapide, les corps simples dont la proportion dans les plantes vasculaires a été rigoureusement déterminée par des travaux récents.

C'est ainsi que la répartition du calcium et du magnésium fut un sujet de recherches pour CANALS (9) et Mlle DAUCAN (10) ; le sodium, le potassium et la détermination du rapport K/Na ont été étudiés par BERTRAND et PERIETZEANU (11), puis BERTRAND et Mme

(9) E. CANALS. — Thèse Sciences, Paris 1920.

(10) Mlle G. DAUCAN. — Thèse Pharmacie, Montpellier 1928.

(11) G. BERTRAND et J. PERIETZEANU. — *C. R. Ac. Sc.* 1927, t. 184, p. 645 et 1616.

ROSENBLATT (12) ; le soufre et le phosphore ainsi que le rapport S/P ont été déterminés par BERTRAND et SILBERSTEIN (13) ; enfin, le manganèse a été dosé dans un très grand nombre de plantes par JADIN et ASTRUC (14), BERTRAND et Mme ROSENBLATT (15). Mais toutes ces analyses se rapportent aux Phanérogames et aux Cryptogames vasculaires et, seules, quelques espèces de Champignons ont été examinées.

Nous nous sommes donc proposé de doser ces éléments dans toute une série d'individus appartenant à des familles diverses du sous-embranchement des Champignons, afin de comparer, en se basant sur la composition de leurs tissus, ces cryptogames d'abord entre eux, puis aux végétaux supérieurs.

Nous avons joint à cette étude, une série de dosages du chlore, cet élément n'avait pu être mis en évidence dans certains champignons alors qu'on le trouvait en grande quantité dans des espèces voisines.

Nous avons divisé notre travail en trois parties :

La première sera consacrée à l'historique des recherches sur la répartition des éléments chimiques dans les Champignons. Cependant, le nombre des travaux effectués sur ce sujet étant relativement restreint, nous avons jugé intéressant de rappeler tous

(12) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *C. R. Ac. Sc.* 1928, t. 186, p. 200 et 1928, t. 187, p. 267. *Bull. Soc. Chim.* (4) 1928, t. 43, p. 1133 et 1930, t. 47, p. 639.

(13) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 99.

(14) F. JADIN et A. ASTRUC. — *C. R. Ac. Sc.*, 1912, t. 155, p. 406.

(15) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1921, t. 173, p. 333.

les dosages d'éléments minéraux qui ont été réalisés jusqu'ici sur ces cryptogames.

Dans la seconde partie, nous décrirons succinctement les diverses méthodes qui permettent de doser les éléments suivants : soufre, phosphore, chlore, sodium, potassium, calcium, magnésium, manganèse dans un milieu organique, puis nous donnerons en détails la technique que nous avons adoptée.

Enfin, dans la troisième partie, nous exposerons les résultats de nos recherches et nous essayerons d'en dégager quelques conclusions.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LA REPARTITION DES ÉLÉMENTS CHIMIQUES DANS LES CHAMPIGNONS

RECHERCHES QUALITATIVES. — CENDRES. — DOSAGE
DES ÉLÉMENTS PLASTIQUES ET CATALYTIQUES
VARIATIONS AVEC L'ÂGE

Depuis longtemps, déjà, les biologistes se sont préoccupés d'établir l'existence dans les végétaux des éléments chimiques divers. Il faut remonter à la fin du XVIII^e siècle pour trouver les premiers résultats. En effet, WESTRUMB (1), en 1796, signalait la présence dans les cendres de la levure de bière, de la potasse, de la chaux, de l'acide phosphorique et de la silice. Plus tard, BRACONNOT (2), MITSCHERLICH (3), BULL (4),

(1) WESTRUMB. — *Crells Annal.*, 1796, t. 1, p. 1.

(2) H. BRACONNOT. — *Ann. Chim. Phys.* (2), 1831, t. 47, p. 59.

(3) MITSCHERLICH. — *Lieb. Ann.*, 1845, t. 56, p. 356; *Journ. prakt. Chem.*, 1845, t. 36, p. 231.

(4) BULL. — *Pogg. Ann.* 1849, t. 76, p. 401.

ROSE (5), THOMSON (6) établirent la composition qualitative de la levure de bière et de celle du vin.

Dès 1804, BOUILLON-LAGRANGE (7) indique que dans l'agaric blanc ou *Boletus larix* « réduit à l'état de cendre, on trouve des carbonates de potasse et de chaux, du muriate de potasse, du sulfate de chaux, du phosphate de chaux et du fer. » Etudiant comparativement l'agaric de chêne : *Boletus igniarius* L., il conclut que « ces expériences ne laissent aucun doute sur la non identité de l'agaric blanc et de l'agaric de chêne. » On peut rapprocher les recherches de cet auteur sur *Lycoperdon Tuber* L (8), celles de VAUQUELIN (9) sur *Agaricus campestris*, *Agaricus theogalus*, *Agaricus bulbosus*, *Agaricus muscarius*, celles de BRACONNOT sur *Agaricus volvaceus*, etc... (10), *Boletus juglandis*, etc... (11).

Après s'être intéressés à des recherches purement qualitatives, les chimistes s'attachèrent à déterminer la *teneur en cendres* des champignons.

De très nombreuses recherches furent entreprises par LIEBIG (12), BÉCHAMP (13), BÜRKLIN (14), BÉLOHOU-

(5) ROSE. — *Pogg. Ann.* 1849, t. 76, p. 401.

(6) R. D. THOMSON. — *Lieb. Ann.* 1852, t. 82, p. 372.

(7) BOUILLON-LAGRANGE. — *Ann. de Chimie*, 1804, t. 51, p. 75.

(8) BOUILLON-LAGRANGE. — *Ann. de Chimie*, 1804, t. 46, p. 191.

(9) M. VAUQUELIN. — *Ann. de Chimie*, 1813, t. 85, p. 5.

(10) H. BRACONNOT. — *Ann. de Chimie*, 1811, t. 79, p. 265.

(11) H. BRACONNOT. — *Ann. de Chimie*, 1813, t. 87, p. 237.

(12) LIEBIG. — *Journ. Prakt. Chem.*, 1870, t. 1, p. 44.

(13) A. BECHAMP. — *C. R. Ac. Sc.*, 1871, t. 73, p. 340.

(14) M. BÜRKLIN. — *Zentr. Agr. Chem.*, 1873, t. 4, p. 243.

BEK (15), NÄGELI et LÆW (16), LOTT (17), LAFAR (18), EULER et LINDNER (19), et autres, pour déterminer la teneur en cendres des levures ; leurs résultats, rarement en accord, oscillent entre 2 et 7 % et atteignent parfois 9 %. GUICHARD (20) a montré que ces valeurs étaient souvent trop élevées et trouve qu'un matériel soigneusement débarrassé, de toute trace d'impureté saline n'abandonne que de 1,94 à 2,16 % de cendres.

Cependant, les Saccharomycetacées ne furent pas les seuls Ascomycètes microscopiques étudiés. Plusieurs espèces des genres *Penicillium* et *Aspergillus* qui possèdent la faculté de se développer aisément sur des milieux de compositions différentes, ont permis de faire ressortir que la teneur en cendres du végétal desséché, ainsi que leur composition étaient susceptibles de varier considérablement avec la nature du milieu artificiel. En effet, SIEBER (21) remarque que le *Penicillium glaucum* poussant sur gélatine sucrée fournit 4,89 % de cendres de la matière sèche, et seulement 0,73 % lorsque le milieu est constitué par une solution d'ammoniaque et de sucre. MARSHALL (22), qui cultive ces champignons sur bouillon de peptone et d'extrait de viande additionné de 1 % d'acide tartrique et de 2 % de sucre de raisin, indique les valeurs

(15) A. BELOHOUBEK. — Just, 1875, p. 288.

(16) NÄGELI et LÆW. — *Lieb. Ann.*, 1878, t. 193, p. 322.

(17) LOTT. — Cité par DUCLAUX. *Traité de Microbiol.*, t. 3, p. 137.

(18) LAFAR. — *Handb. techn. Mykol.*, 1905, t. 4, p. 83.

(19) EULER et LINDNER. — *Chemie der Hefe u. d. alkohol Gärung*, Leipzig, 1915, p. 72.

(20) P. GUICHARD. — *Bull. Soc. Chim.* (3), 1894, t. 11, p. 230.

(21) N. SIEBER. — *Journ. prakt. Chem.*, 1881, t. 23, p. 412.

(22) MARSHALL. — *Arch. Hyg.*, 1897, t. 28, p. 16.

suivantes pour le taux de cendres des matières sèches : *Penicillium*, 6,2 %, *Aspergillus niger* 6 %, *Rhizopus nigricans*, 6,9 %. Parmi les Ascomycètes de taille réduite signalons encore *Oidium albicans* dans lequel KAPPES (23) a trouvé 10,83 % de cendres.

Beaucoup moins connues sont les variations que peuvent subir la teneur en cendres des champignons terrestres suivant la nature du sol ; selon CZAPEK (24), il semble cependant que ces variations soient peu appréciables tout au moins lorsque les constituants du substratum ne provoquent pas de dérangements importants dans la croissance de la cryptogame.

Dans les Ascomycètes Pyrénomycètes et Discomycètes et les Basidiomycètes, les analyses ont porté, non sur le mycélium, mais sur les carpophores. Le pourcentage de cendres varie dans de larges limites ; V. LÖSECKE (25) indique les valeurs suivantes :

<i>Fistulina hepatica</i> Sch.	6,33 %
<i>Clavaria botrytes</i> Pers.	6,23 %
<i>Polyporus ovinus</i> Sch.	2,33 %
<i>Boletus granulatus</i> L	6,42 %
— <i>bovinus</i> L	6,0 %
— <i>elegans</i> Schum	6,0 %
— <i>luteus</i> L	6,39 %
— <i>edulis</i> Bull	6,22 %
<i>Armillaria mellea</i> Vahl	7,5 %
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	8,19 %
<i>Morchella esculenta</i> L	9,74 %
<i>Pholiota mutabilis</i> Sch.	6,46 %
<i>Rozites caperata</i> Pers.	6,02 %
<i>Agaricus ulmarius</i> Bull.	12,65 %
<i>Lepiota procera</i> Scop.	7,0 %
<i>Marasmius oreades</i> Fr.	10,57 %

(23) H. C. KAPPES. — Dissert., Leipzig, 1890.

(24) F. CZAPEK. — Biochemie der Pflanzen, 1925, 3^e éd., t. 2, p. 331.

(25) A. v. LÖSECKE. — Arch. Pharm. 1876, p. 133.

<i>Hyporhodium prunulus</i> Scop.	15,0 %
<i>Lepiota excoriata</i> Sch.	4,34 %
<i>Globalia Bovista</i> L	9,18 %
<i>Tuber brumale</i> Vitt.	9,73 %

Le *Boletus edulis* desséché fournirait, d'après RUBNER (26), 7,94 % de cendres et, selon d'autres analyses, on peut conclure que le carpophore en fournit de 6 à 7 %.

Le taux de cendres des matières sèches serait, d'après NETTLEFOLD (27), de 6,36 % pour *Bovista gigantea* ; selon POLECK, de 6,33 à 9,66 % pour *Merulius lacrymans* ; enfin, KELLER (28) en obtient 3,64 % dans *Sclerotium*.

CHURCH (29) trouve 92,06 % d'eau et 1,10 % de cendres dans *Geoglossum difforme* frais. ZEGA (30) en trouve respectivement 85,7 % et 0,98 % dans *Lactaria piperata*, 94,31 % et 0,49 % dans *Coprinus comatus* frais.

SOKOLOFF (31) détermine la teneur en cendres de plusieurs espèces du genre *Boletus* : *Boletus edulis* Bull. var. α : 7,36 %, *Boletus edulis* Bull. var. β : 6,52 %, *Boletus annulatus* Bull. (= *B. luteus* L.) : 7,56 %, *Boletus scaber* Bull. (= *Boletus aurantiacus* Weinm) : 7,90 %.

HAENSELS (32) trouve dans *Cantharellus cibarius* 9,83% de résidu minéral, dans *Clavaria botrytes*, 6,4% et dans *Boletus edulis*, 5,62 %.

(26) RUBNER. — Arch. f. An. u. Phys. 1915, p. 286.

(27) F. NETTLEFOLD. — Chem. News, 1887, t. 55, p. 191.

(28) J. L. KELLER. — Amér. Journ. Pharm. 1876, p. 553.

(29) A. H. CHURCH. — Journ. of Bot. 1875, p. 169.

(30) A. ZEGA. — Chem. Zentr. 1902, I, p. 362.

(31) N. SOKOLOFF. — Just. 1873, p. 597.

(32) E. HAENSELS. — Biochem Ztsch. 1909, t. 16, p. 9.

Ces analyses se rapportent à l'ensemble du carpophore; mais des auteurs, tels MARGEWICZ et STROHMER, ont montré que les différentes parties de la masse reproductrice ne fournissaient pas le même poids de cendres. D'une manière générale, le pied serait plus pauvre que le chapeau et, dans celui-ci, l'hyménium constituerait la partie la plus riche en matières minérales.

Ces différences pourraient même être considérables ainsi que l'a montré STROHMER (33) pour *Boletus edulis* : le chapeau fournirait 8,29 % de cendres alors que le pied n'en donnerait que 1,95 %.

MARGEWICZ (34) examine toute une série de champignons appartenant à des familles différentes et détermine pour chacun d'eux, séparément sur le pied et sur le chapeau, la teneur en eau et, par suite, celle en matière sèche du champignon frais, le pourcentage de cendres fourni par le champignon desséché, enfin les proportions d'albuminoïdes, de graisses, de cellulose et de sucres. Cet auteur pousse encore plus loin son étude et parvient à montrer que le chapeau n'a pas la même composition dans toutes ses parties et compare les valeurs trouvées pour la partie supérieure puis pour l'hyménium avec celles qu'il avait obtenues sur le chapeau entier. Voici quelques-uns des résultats concernant la teneur en cendres des matières sèches :

(33) STROHMER. — *Chem. Zentr.* 1887, p. 165.

(34) MARGEWICZ, — *Just* 1885, I, p. 85.

	Pied	Chapeau	Parties supérieures du chapeau	Hyménium
<i>Boletus scaber</i> Bull.	7,20	9,14	7,97	8,75
<i>Boletus edulis</i> Bull.	6,67	8,10	9,29	8,45
<i>Boletus aurantiacus</i> Schöff	7,47	9,79	9,25	10,11
<i>Boletus luteus</i> L	7,46	10,47	—	—
<i>Boletus submentosus</i> L . .	5,83	8,58	—	—
<i>Agaricus controversus</i> Pers.	5,91	9,24	—	—
<i>Agaricus torminosus</i> Schöff	6,43	7,37	—	—
<i>Agaricus melleus</i> Vahl . .	8,81	10,92	—	—
<i>Agaricus deliciosus</i> L	7,12	8,14	—	—
<i>Agaricus russula</i> Schaff . .	8,48	8,76	—	—
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	8,43	9,93	—	—

ISSOGLIO (35) avait remarqué que la spore et le périidium de *Elaphomyces hirtus* séchés à l'air étaient bien différents surtout par la teneur en cendres de la matière sèche. Si le périidium et la spore renfermaient respectivement 11,83 et 12,71 % d'eau, les pourcentages de matières minérales contenues furent 2,73 % pour le périidium et 1,70 % pour la spore.

D'autres analyses ont été faites sur ces éléments reproducteurs : ainsi CRAMER (36) a trouvé que les conidies sèches de *Penicillium* fournissaient 1,9 % de cendres, et Aso (37) 5,151 % dans celles d'*Aspergillus oryzae*. Les spores de *Pluteus cervinus* renfermeraient, selon GUICHARD (38), 30,1 % d'eau et 69,9 % de ma-

(35) ISSOGLIO. — Gazz. Chim. ital. 1917, t. 47, p. 31.

(36) E. CRAMER. — Arch. Hyg., 1894, t. 20, p. 197.

(37) K. Aso. — Bull. Agr. Coll. Tokyo, 1900, t. 4, p. 81.

(38) P. GUICHARD. — Bull. Soc. Mycol., 1895, t. 11, p. 88 et Bull. Soc. Chim. (3), 1894, t. 11, p. 230.

tières sèches ; desséchées, elles donneraient 2,3 % de cendres « calcaires, ferrugineuses et non alcalines ». Les spores de *Ustilago Maydis* fourniraient, d'après PARSONS (39), 5,47 % de cendres.

De nombreux auteurs ont cherché à établir la répartition des divers éléments métalloïdiques et métalliques dans quelques Cryptogames. Les premiers résultats se rapportent généralement aux anhydrides d'acides : P_2O_5 , SO_3 , SiO_2 , à quelques halogènes, et aux oxydes basiques : ONa^2 , OK^2 , OCa , OMg , O^3Fe^2 . Puis, peu à peu, à mesure que les techniques analytiques le permirent, d'autres éléments tels le manganèse, le cuivre, l'arsenic, le zinc furent décelés, puis dosés.

SOKOLOFF (40) détermine, sur quelques espèces de *Boletus* desséchés, la teneur en carbone, hydrogène et azote :

	C	H	N
<i>Boletus edulis</i> var. α ..	47,20	7,63	7,56
— <i>edulis</i> var. β ..	48,20	11,84	6,69
— <i>annulatus</i> ..	48,52	6,30	7,70
— <i>scaber</i> ..	50,91	6,19	6,63

CHATIN (41) établit la richesse en azote d'un assez grand nombre de truffes et d'espèce des genres *Terfezia* et *Tirmania*.

Le phosphore, le soufre, le silicium, le chlore, le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium, le fer, le manganèse ont été dosés dans quelques espèces de champignons.

LINTNER se base sur la moyenne de trois séries de dosages pour établir la composition des cendres de la levure (50,6 % PO_4 ; 0,56 % SO_4 ; 1,34 % SiO_2 ;

(39) H. B. PARSONS. — *Pharm. Journ.*, 1882, p. 810.

(40) N. SOKOLOFF. — *Just*, 1873, p. 597.

(41) A. CHATIN. — *C. R. Ac. Sc.* 1890, t. 110, p. 376 et p. 435; *C. R. Ac. Sc.* 1892, t. 114, p. 43.

33,49 % OK^2 (souillé de ONa^2) ; 6,12 % OMg ; 5,47 % OCa ; 0,5 % O^3Fe^2). Ces résultats confirment ceux qui avaient été fournis antérieurement par WOLFF (42)

CHATIN (43) avait remarqué que l'étude chimique du genre *Tuber* n'avait fait l'objet que de quelques indications qualitatives sommaires, dues surtout à PAYEN et à LEFORT, entreprit l'analyse des truffes de Souillac (Lot), de Dédégnac (Lot) et de Chaumont (Haute-Marne). Il compara ensuite la composition des cendres à celle des sols dans lesquels ces Champignons s'étaient développés et constata que : « six corps, l'azote, le phosphore, le calcium, le fer, le soufre se présentent tout d'abord comme caractéristiques de la truffe par leur notable proportion qui se maintient toujours élevée, même quand le sol ne renferme que des quantités minimales de ces corps. » Dans les matières minérales, « le phosphore se maintient en proportions très fortes, l'acide phosphorique entrant en moyenne pour plus de 25 % dans la composition des cendres ; il est suivi de près par la potasse, ces deux composés formant ensemble plus de la moitié du poids total de cendres, même quand le sol n'en contient que fort peu. » CHATIN a rapproché ensuite la composition des cendres des truffes d'Europe appartenant au genre *Tuber* à celles des Terfas de Barika (*Terfezia Boudieri* Ch.), de Biskra (*Tirmania africana* Ch.), des Kamès de Damas (*Terfezia Claveryi* Ch.), de Bagdad (*Terfezia Hafizi* Ch.) et de Smyrne (*Terfezia Leonis*).

SOKOLOFF (44), indique la composition des cendres

(42) WOLFF. — Aschenanalysen, 1880, t. 1, p. 134; t. 2, p. 109.

(43) A. CHATIN. — *Loc. cit.*

(44) N. SOKOLOFF, — *Jüst.*, 1873, p. 597.

de quelques bolets, HEINRICH (45) celle du *Claviceps purpurea*, SCHMIEDER (46), du *Polyporus officinalis*, FRITSCH (47) du *Polysaccum pisocarpium*, HEINISCH et ZELLNER (48), de l'*Amanita muscaria*. HAENSELS (49) dose le phosphore et le fer dans *Cantharellus cibarius*, *Clavaria botrytes* et *Boletus edulis*.

Voici, réunis dans un tableau, les résultats de ces diverses analyses :

WOLFF et KÖNIG (50) ont trouvé dans 1 kilogramme de champignons frais : 0,590 gr. de Ca pour la morille, 0,274 gr. pour le bolet et 0.700 gr. pour la truffe.

Récemment, BERTRAND et SILBERSTEIN (51) ont dosé, à l'aide de techniques précises, le phosphore et le soufre dans *Psalliota campestris* (en % de matières sèches : S = 0,4010 ; P = 1,1250. — S/P = 0,3564) ; on peut remarquer, d'après un tableau fourni par ces auteurs, que ce champignon se classe parmi les végétaux les plus pauvres en soufre, mais, par contre, parmi les plus riches en phosphore.

Le chlorure de potassium fut signalé par BOUDIER (52) dans *Amanita muscaria* et *Boletus edulis*, puis par FERRY (53) dans *Amanita junquillea*, *A. vali-*

(45) R. HEINRICH. — *Jahresber. Agr. Chem.*, 1894, p. 228.

(46) SCHMIEDER. — *Arch. Pharm.*, 1886, t. 224, p. 641.

(47) R. FRITSCH. — *Arch. Pharm.*, 1889, p. 193.

(48) W. HEINISCH et J. ZELLNER. — *Monatsh. Chem.*, 1904, t. 25, p. 537.

(49) E. HAENSELS. — *Biochem. Ztsch.*, 1909, t. 16, p. 9.

(50) E. WOLFF et J. KÖNIG. — in ALBU-NEUBERG, *Mineralstoffwechsels*, p. 226, Springer, Berlin, 1906.

(51) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 99.

(52) E. BOUDIER. — *Des champignons au point de vue de leurs caractères usuels*, etc. Paris, 1866.

(53) FERRY. — *Revue Mycologique*, n° 47, 1890.

	OK ²	ONa ²	OCa	OMg	O ³ Fe ²	P ² O ⁵	SO ³	SiO ²	Cl
<i>Tuber cibarium</i>	25,15	1,10	9,40	0,20	3,20	30,25	4,65	10,0	0,20
<i>Terfezia Boudieri</i>	3,93	0,67	6,56	2,62	1,60	5,39	3,36	79,92	0,21
<i>Tirmania africana</i>	9,80	2,81	3,20	2,62	3,59	12,33	3,66	61,70	0,28
<i>Terfezia Claveryi</i>	8,18	1,70	19,10	2,39	5,65	13,40	4,50	55,21	0,25
<i>Terfezia Hafizi</i>	11,10	2,20	7,20	1,50	4,80	15,60	3,70	53,66	0,24
<i>Boletus edulis</i> var. α . . .	50,37	3,60	1,00	2,22	1,63	25,06	12,97	—	—
<i>Boletus edulis</i> var. β . . .	57,76	0,87	5,95	2,41	0,98	26,08	8,42	—	—
<i>Boletus luteus</i>	58,10	3,99	—	—	0,53	21,74	—	—	—
<i>Boletus scaber</i>	56,09	1,65	—	—	1,11	20,27	—	—	—
<i>Claviceps purpurea</i>	35,52	1,28	0,98	6,32	1,01	50,56	0,14	—	4,33
<i>Polyporus officinalis</i> . . .	24,80	2,81	2,27	9,69	—	21,56	2,53	2,33	1,04
<i>Polysaccum pisocarpium</i> . .	54,34	3,45	0,11	2,30	0,94	21,43	2,31	1,63	6,41
<i>Amanita muscaria</i>	41,00	—	0,21	—	—	20,77	—	—	—
<i>Cantharellus cibarius</i> . . .	—	—	—	—	1,36	8,95	—	—	—
<i>Clavaria botrytes</i>	—	—	—	—	0,59	13,91	—	—	—
<i>Boletus edulis</i>	—	—	—	—	0,21	18,37	—	—	—

da, *A. spissa* ; celui-ci indiqua que le sel se rencontre dans toutes les espèces appartenant au genre *Amanita* ; BOURQUELOT, recherchant microscopiquement de petites quantités de trehalose dans les extraits alcooliques de champignons, aperçut des cristaux de chlorure de potassium à côté de ceux de tréhalose et de mannite. Il constata que *Amanita phalloides* et *Boletus cyanescens* sont les espèces les plus riches : « La première en renferme une si grande quantité que l'extrait alcoolique se prend d'abord, en totalité en une masse cristalline exclusivement formée par ce sel. En le délayant dans un peu d'alcool, en essorant le mélange à la trompe et en calcinant légèrement, j'ai pu obtenir un chlorure pur, blanc, précipitant par l'azotate d'argent en présence d'acide azotique. Avec 160 gr. de champignons frais, j'en ai ainsi obtenu 0,80 gr., ce qui correspond à au moins 5 gr. par kilog, car il en restait encore une certaine proportion dans les eaux-mères. » Cet auteur retrouve ce sel, de cette manière, dans 22 espèces appartenant aux Basidiomycètes ou aux Ascomycètes, mais ne parvient pas à le déceler dans les genres *Lactarius*, *Russula* et *Cortinarius*.

En dehors de ces travaux qui se rapportent au végétal entier ou, du moins, à sa presque totalité, signalons l'analyse des conidies sèches de *Aspergillus oryzae* ; la composition, selon Aso (55), serait la suivante : $OK^2 = 45,964 \%$; $ONa^2 = 4,131 \%$; $OCa = 1,038 \%$; $OMg = 4,364 \%$; $O^3Fe^2 = 4,916 \%$; $P^2O^5 = 39,640 \%$; $SiO^2 = 2 \%$; $Cl = \text{traces}$).

Tous ces éléments sont ceux qui existent dans ces cryptogames et, d'une manière générale, dans les végétaux en proportions élevées. Mais il en existe d'au-

(54) E. BOURQUELOT. — *Bull. Soc. Mycol.*, 1894, p. 88.

(55) K. Aso. — *Bull. Agr. Coll. Tokyo*, 1900, t. 4, p. 81.

tres, anions ou cations, dont la présence a été décelée dans les Phanérogames, mais, parfois aussi, dans les Champignons.

Parmi ces corps qui, selon l'expression de Gabriel BERTRAND constituent les « infiniments petits chimiques », le *manganèse* fut découvert l'un des premiers, grâce à sa recherche facile.

Ce métal fut décelé, dès 1883, par BISSINGER (56) dans *Lactaria piperata*, puis FRITSCH (57) en 1889 en montra la présence dans *Boletus edulis*, *Polysaccum pisocarpium* et *Cantharellus cibarius*. CHATIN (58) l'a mis en évidence dans les truffes et les terfàs et est parvenu à le doser dans les quelques espèces suivantes : *Terfezia Boudieri* : 0,005 % des cendres, *Tirma-
nia africana* : 0,005 %, *Terfezia Claveryi* : 0,04 % ; il conclut que « le manganèse, non signalé, paraît se trouver dans toutes les truffes, bien qu'en proportion minime, le fait même de sa présence n'est pas sans intérêt, quand on considère en thérapeutique la même propriété qu'au fer. »

PICHARD (59), en 1898, indiquait que le manganèse semblait universellement répandu dans le règne végétal et le règne animal. Ayant réalisé un grand nombre d'analyses de ce métal dans des plantes diverses, il signalait que « parmi les plantes terrestres, les Champignons hyménomycètes à chapeau viennent au premier rang par leur richesse en manganèse. D'au-

(56) BISSINGER. — *Arch. Pharm.*, 1883, p. 321.

(57) R. FRITSCH. — *Arch. Pharm.*, 1889, p. 193.

(58) CHATIN. — *C. R. Ac. Sc.*, 1890, t. 110, p. 435 et t. 114, p. 46.

(59) P. PICHARD. — *C. R. Ac. Sc.*, 1898, t. 126, p. 550.

tres Champignons, Gasteromycètes, Ascomycètes, Lichens en sont aussi très chargés. »

Appliquant la technique précise de BERTRAND, JADIN et ASTRUC (60) dosent ce métal dans un grand nombre de végétaux dont trois espèces de Champignons. Enfin, plus récemment, GARNIER (61), déterminant la teneur en manganèse des cendres de plantes lorraines, donne la richesse de *Cratarellus cornucopioides* en cet élément. Seuls, ces résultats peuvent être considérés comme rigoureusement exacts ; ces analyses sont consignées dans le tableau suivant :

	Mn en mg pour 100 gr. de		
	Plantes fraîches	Plantes sèches	Cendres
<i>Morchella esculenta</i> (60)	0,44	4,45	44,00
<i>Tuber melanosporum</i> (60) ..	1,57	6,69	88,00
<i>Pratella campestris</i> (60)	0,58	4,24	11,20
<i>Cratarellus cornucopioides</i> (61)	—	17,13	127,64

Le cuivre fut décelé par FRITSCH (62) dans *Boletus edulis*, *Polysaccum pisocarpium* et *Cantharellus cibarius* ; FLEURENT et LÉVI (63), montrèrent que ce métal, toujours présent dans les végétaux, joue un rôle catalytique comparable à celui du manganèse. Dans les Champignons, il a toujours été mis en évidence et les dosages effectués donnent les résultats suivants :

(60) F. JADIN et A. ASTRUC. — *C. R. Ac. Sc.*, 1912, t. 155, p. 406.

(61) M. GARNIER. — Thèse Pharmacie, Nancy, 1928.

(62) R. FRITSCH. — *Arch. Pharm.*, 1889, p. 193.

(63) FLEURENT et LÉVI. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1920, p. 441.

Cu en mg pour 1.000 gr. de

	Plantes fraîches	Plantes sèches
<i>Agaric comestible</i>	5,2	34,0
<i>Lactaire poivré</i>	1,3	13,2
<i>Lycoperdon ciselé</i>	12,0	30,1
<i>Hypholome en touffes</i>	1,2	17,7
<i>Clavaria formosa</i>	1,0	14,2
<i>Scléroderme vulgaire</i>	1,1	4,5
<i>Amanite tue-mouches</i>	2,2	37,2
<i>Cortinaire purpurine</i>	1,8	19,5
<i>Clavaires mélangées</i>	2,5	18,8
<i>Boletus edulis</i>	3,2	35,3
<i>Hydnum repandum</i>	3,3	35,7
<i>Cantharellus cibarius</i>	0,5	4,3

Ces auteurs, comparant ces chiffres à ceux provenant du dosage du cuivre dans d'autres végétaux, font ressortir que les Champignons sont de beaucoup les plantes les plus riches en ce métal.

Le *zinc*, dont BERTRAND et JAVILLIER ont signalé la présence constante et indispensable à tout organisme végétal, fut retrouvé dans ces cryptogames par MOUSSERON (64) et FAUROUX (65). Ces auteurs ont pensé que l'action de ce métal dans les Champignons devait être différente de celle qu'il possède dans les plantes à chlorophylle ; en effet, ils sont parvenus à montrer que la teneur en zinc des espèces varie dans le même sens que le pouvoir nucléolytique et que ce métal est plus abondant dans les espèces hémolytiques. Ces résultats présentent une certaine analogie avec ceux de DELEZENNE sur les venins de serpent. Voici la teneur en zinc des espèces examinées par ces auteurs :

(64) M. MOUSSERON et P. FAUROUX. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, t. 14, p. 1235.

(65) P. FAUROUX. — Thèse Pharmacie, Montpellier, 1932, page 38.

	Zn en mg pour 1000 gr. de	
	Plantes fraîches	Plantes sèches
<i>Clavaria aurea</i>	3,90	41
<i>Morchella esculenta</i>		64,1
<i>Hydnum imbricatum</i>	5,89	67
<i>Hydnum vitum</i>	6,16	69
<i>Boletus edulis</i>	8,2	74
<i>Lactarius deliciosus</i>	3,93	86
<i>Claviceps purpurea</i>		90
<i>Amanita ovoidea</i>	6,46	95
<i>Tricholoma sulfureum</i>	7,34	124
<i>Hygrophorus conicus</i>	10,92	136,6
<i>Amanita muscaria</i>	10,20	167
<i>Amanita verna</i>	11,36	186
<i>Amanita pantherina</i>	16,82	202
<i>Russula emetica</i>	42,2	211
<i>Helvella crispa</i>	34,06	262
<i>Pleurotus olearius</i>	45,35	279

L'arsenic fut également un de ces éléments dont la présence dans les organismes vivants ne fut révélée que lorsque les méthodes d'analyse furent suffisamment sensibles. BERTRAND le décela dans les tissus animaux et JADIN et ASTRUC (66), complétant les quelques recherches de STEIN, de GAUTHIER et CLAUSMANN, montrèrent par l'analyse de 80 plantes appartenant à des familles diverses que cet élément se retrouvait régulièrement dans tous les individus du règne végétal. Parmi la longue liste de leurs résultats, citons :

	As en mg pour 100 gr.	
	Plantes fraîches	Plantes sèches
<i>Tuber melanosporum</i>	0,020	0,085
<i>Morchella esculenta</i>	0,007	0,070
<i>Pratella campestris</i>	0,006	0,045

(66) F. JADIN et A. ASTRUC. — C. R. Ac. Sc., 1912, t. 154, p. 893 et Journ. Pharm. Chim. (7), 1912, t. 6, p. 529.

Ces auteurs trouvent dans les Champignons des quantités d'arsenic voisines de celles qu'ils ont rencontrées dans les autres végétaux. Les Champignons ne semblent donc pas se caractériser par une teneur anormale en cet élément.

Le titane fut recherché dans ces cryptogames, mais BERTRAND et Mme VORONCA-SPIRT (67) qui l'étudièrent ne parvinrent pas à le trouver dans tous les échantillons examinés. A ce propos, ils indiquent : « L'examen des Champignons a conduit à une observation particulière. Nous avons bien dosé environ un demi-milligramme de titane par kg de matière fraîche dans les trois hyménomycètes que nous avons pu nous procurer : le champignon de couche, le bolet comestible et la russule de Quélet, mais nous n'avons pas réussi à mettre le métal en évidence avec certitude dans la levure de boulangerie et dans l'*Aspergillus niger*. » Les résultats de leurs analyses sont réunis dans ce tableau :

	Ti en mg pour 1.000 gr.		
	Plantes Fraîches	Plantes Sèches	Cendres
<i>Psalliota campestris</i>	0,3	2,4	27,2
<i>Boletus edulis</i>	0,7	7,2	54,7
<i>Russula Queletii</i>	0,54	4,8	77,1

L'aluminium a été trouvé par NETTLEFOLD (68) dans *Bovista gigantea* dont il constituerait, selon cet auteur, 15,66 % des cendres (en alumine). Par contre, BERTRAND et Mlle LÉVY (69), qui avaient retrouvé cet

(67) G. BERTRAND et Mme VORONCA-SPIRT. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 102.

(68) F. NETTLEFOLD. — *Chem. News*, 1887, t. 55, p. 191.

(69) G. BERTRAND et Mlle G. LÉVY. — *C. R. Ac. Sc.*, 1931, t. 192, p. 525.

élément dans un grand nombre de plantes, n'ont pu le découvrir dans *Agaricum campestre*, seule espèce de Champignons étudiée par eux.

Le *nickel* et le *cobalt* furent dosés par BERTRAND et MOKRAGNATZ (70), dans *Cantharellus cibarius*. Cette cryptogame serait l'espèce végétale dans laquelle on rencontre ces deux métaux en plus grande quantité (par kg de produit sec : Ni = 3,5 mg ; Co = 2,13 mg).

CHATIN (71) qui révéla, le premier, avec certitude, la présence de l'*iode* dans l'organisme des plantes, en trouva souvent de fortes traces dans diverses espèces des genres *Tuber*, *Terfezia* et *Tirmania*.

Rappelons encore que le *lithium* fut décelé par FRITSCH (72) dans *Boletus edulis*, *Polysaccum pisco-carpium* et *Cantharellus cibarius*, et que le *bore* fut mis en évidence par AGULHON (73) dans le Champignon de couche.

CANALS (74), étudiant les suc de végétaux afin de connaître les formes sous lesquelles se rencontrent le magnésium, le calcium et le phosphore, a opéré, entre autres, sur un suc de champignons provenant d'un mélange de *Marasmius oreades*, *Agaricus campestris* et de diverses espèces du genre *Coprinus*. L'analyse a été réalisée sur le suc total, puis dialysé et, enfin, ultrafiltré pour déterminer les pertes subies par chacun de ces éléments à la dialyse et à l'ultrafiltration. Les résultats obtenus sur les suc de Champignons sont comparables à ceux que fournis-

(70) G. BERTRAND et M. MOKRAGNATZ. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1925, t. 37, p. 556.

(71) CHATIN. — *Loc. cit.*

(72) R. FRITSCH. — *Arch. Pharm.*, 1889, p. 193.

(73) H. AGULHON. — Thèse Sciences, Paris, 1910.

(74) E. CANALS. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 1267.

sent les sucres d'autres Dicotylédones : le magnésium et le phosphore semblent surtout exister dans les sucres à l'état minéral, peut-être sous la forme de phosphate dimagnésien facilement dissociable, alors que le calcium, qui subit toujours de fortes pertes dans ces opérations, entrerait dans la constitution de molécules plus complexes probablement organiques et colloïdales.

Les diverses analyses que nous venons de mentionner ont été réalisées sur des sujets plus ou moins âgés sans que les auteurs se soient préoccupés de leur stade végétatif. Les Champignons, comme beaucoup de végétaux, fournissent souvent un faible pourcentage de cendres et comme, d'autre part, ce sont généralement des individus de dimensions et par suite de poids fort réduits, il était nécessaire, pour faire les dosages, d'opérer sur plusieurs carpophores mais comme ceux-ci pouvaient être d'âge différents, les résultats des analyses se rapportaient à un échantillon moyen.

D'autre part, la rapidité de la croissance de ces cryptogames pouvait laisser supposer que leur composition demeurerait sensiblement constante pour des âges différents. Les recherches de FISCHER à ce sujet sont particulièrement intéressantes ; il compare les résultats d'analyses faites sur des individus de l'espèce *Cantharellus cibarius* à trois stades de croissance et constate qu'au cours de la vie de ce végétal, le poids de substance sèche diminue régulièrement de 10,33 % à 9,21 %, puis à 8,94 %, tandis que la proportion de cendres fournies par la plante desséchée augmente constamment de 9,99 % à 10,40 % et à 10,50 %. La composition des cendres, elle-même, semble varier : c'est ainsi que la teneur en phosphore

diminue passant de 13,01 à 12,08 % en P^2O^5 et que, par contre, la richesse en potassium s'accroît de 58,79 % à 60,31 % en OK^2 . Cependant ce sont, il nous semble, des variations très faibles et on peut, sans grande erreur, concevoir la structure minérale d'un Champignon sans préciser le stade de son développement.

CHAPITRE II

TECHNIQUE ANALYTIQUE

Un élément contenu dans une substance vivante ne peut être dosé qu'après être débarrassé de la matière organique ; il est ensuite nécessaire d'obtenir intégralement ce corps en solution et on terminera le dosage par les procédés courants.

Pour doser plusieurs éléments dans un même échantillon, il sera préférable de choisir les techniques qui réduisent au minimum le nombre des manipulations.

Dans ce chapitre, nous exposerons successivement les procédés qui permettent de faire passer quantitativement en solution chacun des corps simples que nous désirons examiner ; nous décrirons ensuite brièvement les méthodes de dosage de chacun d'eux en insistant sur celles qui nous ont semblé préférables ; enfin, nous donnerons en détails la technique opératoire qui nous a paru la meilleure et que nous avons suivie.

PREMIERE PARTIE

DESTRUCTION DE LA MATIERE ORGANIQUE ET MISE EN SOLUTION DES ÉLÉMENTS

De fort nombreux procédés ont été proposés par les chimistes biologistes afin de détruire les molécules organiques ou de les décomposer, partiellement mais suffisamment, pour effectuer un dosage correct. Les plus anciennes étaient des méthodes par voie sèche : la substance convenablement divisée était soumise à la calcination dans un four à moufle, porté à température élevée afin de brûler les substances organiques et d'obtenir un résidu solide renfermant, en théorie du moins, les matières minérales de l'organe desséché ; on pouvait ensuite, par un procédé approprié, faire passer quantitativement en solution dans un liquide convenable, l'élément à doser.

Il faut tout d'abord remarquer que les divers composés minéraux retrouvés dans les cendres ne préexistent pas ou ne se rencontrent pas dans les mêmes proportions dans le végétal : ainsi les carbonates prennent naissance dans la destruction des sels d'acides organiques, les sulfates proviennent, en grande partie, de protides sulfurés, les phosphates dérivent partiellement des lécithines et des nucléines. On ne devra donc pas doser l'acide sulfurique ou l'acide phosphorique dans ces cendres pour en calculer la teneur du végétal, mais on se bornera à déterminer

la teneur en soufre ou en phosphore sans s'occuper des nombreuses combinaisons minérales et surtout organiques dans lesquelles l'élément est engagé dans le végétal vivant.

Les divers corps que nous nous sommes proposé de doser : soufre, phosphore, chlore, sodium, potassium, calcium, magnésium, manganèse, se retrouvent-ils intégralement dans les cendres lorsqu'on détruit par la chaleur les molécules organiques complexes dont ils peuvent faire partie ? Nous allons examiner successivement ce que deviennent les cations, puis les anions au cours de l'incinération.

A) CATIONS. — Le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le manganèse sont, comme la plupart des autres métaux, des corps qui fournissent généralement des combinaisons minérales peu volatiles.

Le calcium, le magnésium et le manganèse se retrouvent en totalité dans les cendres même si la calcination a été effectuée à haute température ; mais le potassium, et surtout le sodium qui se rencontrent souvent dans la plante sèche sous forme de chlorures, peuvent disparaître au moins partiellement par volatilisation lorsque ces sels sont portés à une température trop élevée.

Bien que GRABAR (1) ait préconisé, afin d'éviter les pertes de sodium, une destruction par voie humide (attaque nitrique) suivie d'une calcination à une température inférieure à 180°, il nous a semblé beaucoup plus pratique de détruire la matière organique par calcination en opérant selon les indications de G.

(1) M. P. GRABAR. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, t. 11, p. 58.

BERTRAND (2) : le végétal desséché et divisé, ou, de préférence, pulvérisé, est calciné dans un four à moufle porté à une température telle que le rouge soit à peine visible. Les substances organiques, qui constituent la presque totalité de la plante sèche brûlent ou se transforment et donnent une masse charbonneuse ; on reprend par de l'eau distillée qui dissout les sels alcalins, on sépare le liquide par filtration, et on calcine à température légèrement plus élevée la masse noire afin de brûler le charbon et d'obtenir un résidu minéral privé de substances organiques : Le filtrat, réuni aux matières minérales précédentes, est ensuite évaporé, puis le résidu sec calciné légèrement au moufle à basse température ; on obtient de cette façon des cendres renfermant intégralement les métaux précédents.

Il est à noter que, par ce procédé, les carbonates de calcium et de magnésium ne sont pas transformés en oxydes, et qu'une recarbonatation des cendres obtenues ne sera pas nécessaire avant de déterminer, par pesée, le taux des matières minérales résiduelles.

B) ANIONS. — Nous venons d'indiquer que les métaux examinés peuvent être retrouvés quantitativement dans les cendres ; en est-il de même des trois anions : chlore, soufre et phosphore ?

a) *Chlore* : Le chlore, passant à la dialyse et à l'ultrafiltration, existerait dans les substances biologiques sous une forme très mobile et vraisemblablement ionisée ; dans le végétal desséché il se trouve à l'état de chlorures.

(2) G. BERTRAND. — Guide pour les manipulations de chimie biologique, Dunot, et Pinat, Paris,

Nous venons de voir que, par incinération à température élevée, les chlorures de sodium et de potassium disparaissaient à l'état de vapeur, mais que l'on pouvait éviter cette perte par chauffage modéré ; le chlore devrait donc se retrouver entièrement dans les cendres.

Cependant, HERBERT DAVIS (3) a montré que lorsqu'on calcine, même à basse température, des quantités très faibles de chlorure de sodium avec de fortes quantités de matière organique (ce qui est le cas dans l'incinération des plantes), 30 à 40 % du chlore pouvaient disparaître sans entraîner une perte de base, celle-ci se retrouvant dans les cendres sous forme d'alcali.

Selon FLEURY et AMBERT (4), il se formerait, au cours de la calcination, un composé organique acide capable de déplacer du chlorure l'acide chlorhydrique volatil ; ce composé organique acide, hypothétique, n'a pu cependant être mis en évidence.

La calcination ne sera donc pas applicable. Les méthodes de destruction de la matière organique par oxydation à l'air libre seront aussi à rejeter, car dans cette opération l'acide chlorhydrique des chlorures donne naissance à du chlore qui se dégage.

On ne parviendra pas à obtenir une solution de chlorure débarrassée de matières organiques et *bien que le chlore existe sous forme minérale on sera obligé d'appliquer des méthodes particulières au dosage du chlore organique* que nous exposerons dans un prochain paragraphe.

(3) E. HERBERT DAVIS. — *Journ. of Soc. of Chem. Ind.*, 1901, t. 20, p. 98.

(4) FLEURY et AMBERT. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 868.

b) *Soufre* : Le soufre se rencontre dans les végétaux sous forme de sulfates minéraux, mais ceux-ci n'existent le plus souvent qu'à l'état de traces. La grande partie de ce métalloïde se trouve dans les molécules des matières protidiques dont le noyau renferme toujours un principe organique sulfuré.

Pendant l'incinération, le soufre organique est oxydé par l'oxygène de l'air et transformé en sulfates que l'on retrouve dans les cendres. C'est là un exemple frappant des modifications que peuvent subir par la calcination les éléments chimiques des tissus végétaux.

Cependant, au cours de cette destruction thermique une grande partie du soufre disparaît sous forme de produits volatils ; d'autre part, les sulfates formés peuvent être partiellement réduits en sulfures métalliques par le charbon, provenant de la combustion, et lorsque les cendres seront reprises par l'eau acidulée, une nouvelle perte de soufre aura lieu sous forme d'hydrogène sulfuré. Cette technique, longtemps utilisée par les chimistes, est donc à délaissier.

Les diverses méthodes préconisées par les auteurs, en vue d'obtenir des dosages de soufre total aussi précis que possible, reposent toutes sur l'oxydation du soufre et sa transformation en acide sulfurique, oxydation qui a également pour rôle de détruire les substances organiques. Elles sont assez nombreuses et basées sur des principes différents ; nous n'en indiquerons que quelques-unes :

La destruction et l'oxydation du soufre peuvent être réalisées par voie sèche, soit par fusion tels les procédés de LIEBIG (5) (fusion avec HOK et NO^3K)

(5) LIEBIG. — Voir TREADWELL. — Manuel de Chimie analytique, 4^e éd., 1924, t. 2, p. 343.

et de ASBOTH (6) (fusion avec HOK et O^2Na^2), soit par combustion dans un courant d'oxygène et retention des gaz sulfurés par une colonne à CO^3Na^2 selon les méthodes de BERTHELOT et ANDRÉ (7) et de BARLOW (8).

Par voie humide, signalons l'excellente méthode de CARIUS (9) (oxydation par NO^3H sous pression) qui, bien que très précise, ne permet pas de détruire avec facilité de grandes quantités de matières. LEMATTE, BOINOT et KAHANE (10), LESURE et DUNEZ (11), utilisent une destruction nitro-perchlorique, procédé actuellement très utilisé. BERTRAND (12), BERTRAND et SILBERSTEIN (13) détruisent la matière organique par l'acide azotique et terminent l'oxydation par fusion avec un mélange de nitrate et de carbonate de sodium.

ECHEVIN et CRÉPIN (14) recommandent de décomposer la matière organique et d'oxyder le soufre par l'acide nitrique additionné de nitrate de potassium. Ces auteurs ont contrôlé leur méthode en dosant le soufre sur des composés végétaux dans lesquels la quantité de cet élément est bien déterminée. Pour cela, ils font cultiver des spores de *Sterigmatocystis*

(6) ASBOTH. — *Chem. Zeitung*, 1895, t. 19, p. 2040.

(7) BERTHELOT et ANDRÉ. — *C. R. Ac. Sc.*, 1887, t. 105, page 1217 et *Ann. Chim. Phys.* (6), 1888, t. 15, p. 119.

(8) BARLOW. — *Journ. Amér. Chim. Soc.*, 1904, t. 26, p. 341.

(9) CARIUS. — *Lieb. Ann.*, 1860, t. 116, 1.

(10) LEMATTE, BOINOT et KAHANE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, p. 1211.

(11) A. LESURE et A. DUNEZ. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 879.

(12) G. BERTRAND. — *Le caoutchouc et la gutta-percha*, 4^e année, 1907, p. 1201.

(13) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1927, t. 41, p. 950.

(14) R. ECHEVIN et A. CRÉPIN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 1248.

nigra sur un milieu artificiel de composition bien établie et dosent simultanément le soufre total renfermé dans le milieu et dans le végétal.

Le soufre est ainsi transformé en sulfates, on termine le plus souvent le dosage par pesée de sulfate de baryum. Or, comme l'avaient constaté FRÉSENIUS (15) et JUNGFLIEH (16), ce sel est susceptible, lors de sa précipitation, d'adsorber certains sels minéraux qui ne peuvent être éliminés ensuite, même par un lavage prolongé à l'eau chlorhydrique chaude. Les erreurs par excès sont restées longtemps inaperçues, car elles étaient compensées en partie par une perte de soufre provenant de l'oxydation incomplète de ce métalloïde (JOLIBOIS) (17).

Nous avons préféré la méthode de ECHEVIN et CRÉPIN qui leur avait fourni d'excellents résultats, car elle nous a paru très pratique en raison de sa simplicité.

c) *Phosphore* : Le phosphore existe dans les plantes, soit sous forme minérale, tels les phosphates métalliques en particulier de potassium et de magnésium, soit sous forme de composés organiques complexes comme la phytine, les lécithines et les nucléïnes qui renferment parfois 9 à 10 % de phosphore combiné à une substance albuminoïde ; dans tous ces composés, le phosphore est lié à l'oxygène sous forme de resté phosphorique.

Alors que la calcination entraînait de très grandes pertes du soufre qui entre dans des combinaisons à noyau cystineique, le phosphore, déjà oxydé, ne peut

(15) FRESENIUS. — Traité d'analyse chimique quantitative, 8^e éd. fr., p. 465.

(16) JUNGFLIEH. — Manipul. de chim., 1886, p. 1059.

(17) JOLIBOIS. — Bull. Soc. Chim. (5), 1934, t. 1, p. 597.

disparaître que dans des proportions beaucoup moins élevées ne dépassant pas 7 %. Selon FLEURENT et LÉVI (18), cette perte de phosphore proviendrait de la réduction partielle à haute température des phosphates acides résultant de la destruction des molécules organiques phosphorées par le charbon et donnant naissance à du phosphore qui, libéré, brûle et s'échappe sous forme d'anhydride phosphorique. A haute température, la silice renfermée dans les cendres peut également déplacer l'acide phosphorique de ses combinaisons ; enfin l'action des matières grasses peut entraîner aussi une diminution de phosphore.

Divers auteurs ayant remarqué ces pertes ont proposé des méthodes de destruction différentes :

Parmi les procédés par voie sèche, citons celui de SCHLÆSING (calcination à basse température dans un lent courant d'oxygène) et celui de FLEURENT et LÉVI (19) (calcination à basse température en présence de chaux dans un courant d'oxygène).

Les méthodes par voie humide ont été appliquées par GAROLA (20) (destruction par SO^4H^2), par FLEURENT (21) (attaques successives par NO^3H , puis par SO^4H^2 et Hg) et par ECHEVIN et CRÉPIN (22) (oxydation par NO^3H et NO^3K). BERTRAND et SILBERSTEIN (23)

(18) E. FLEURENT et L. LÉVI. — *Bull. Soc. Chim.* (4). 1911, t. 9, p. 379.

(19) E. FLEURENT et L. LÉVI. — *Loc. cit.*

(20) GAROLA. — Congrès International de Chimie appliquée, 1896, 2^e vol., p. 161.

(21) E. FLEURENT. — *Bull. Soc. Chim.* (3), 1905, t. 33, p. 101.

(22) R. ECHEVIN et A. CRÉPIN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 1248.

(23) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1927, t. 41, p. 950.

utilisent une technique mixte : destruction par l'acide nitrique suivie d'une fusion alcaline oxydante.

Ces derniers auteurs ont comparé les résultats rigoureux donnés par leur méthode à ceux fournis par l'incinération et reconnaissent que « en calcinant avec précaution, à température relativement basse de façon à obtenir des cendres poreuses et légères, on évite presque complètement la réduction des phosphates et, par suite, la perte en phosphore. »

En nous basant sur ces considérations, nous avons adopté la méthode par incinération en deux temps telle que nous l'avons décrite à propos des métaux alcalins. On reprend par l'eau la masse charbonneuse, on sépare ainsi la majeure partie des phosphates et des sels solubles qui, par leur fusion, gêneraient ensuite la combustion du charbon en favorisant la réduction des phosphates.

Indiquons également que les cendres de champignons sont fortement alcalines et que, seuls, les phosphates acides sont réduits par le charbon.

Nous avons indiqué les méthodes de destruction de la substance organique particulières à chaque élément envisagé. Il ressort de ce rapide exposé que le phosphore, le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le manganèse peuvent être débarrassés de la matière organique sans subir aucune perte appréciable en suivant la méthode d'incinération en deux temps. Cette remarque est fort intéressante car, à l'aide d'une seule incinération, nous obtiendrons des cendres qui nous permettront, sur une partie aliquote de leur solution, de doser chacun de ces éléments.

Le manganèse n'existant qu'en proportion extrêmement réduite dans les cendres et, d'autre part, cel-

les-ci nécessitant une préparation spéciale, il nous a paru préférable de le doser isolément sur une nouvelle prise d'essai.

Les opérations préliminaires aux dosages seront les suivantes :

1° Incinération pour le dosage du phosphore, du sodium, du potassium, du calcium et du magnésium.

2° Incinération particulière pour le dosage du manganèse.

3° Destruction nitrique pour le dosage du soufre.

4° Opération spéciale pour le dosage du chlore.

DEUXIÈME PARTIE

METHODES DE DOSAGE DES ÉLÉMENTS

Nous n'indiquerons pour chaque élément que les principales méthodes qui peuvent être appliquées en biochimie et nous nous bornerons à décrire uniquement celles que nous avons utilisées.

I. — DOSAGE DU SOUFRE

Le soufre est préalablement oxydé et amené à l'état de sulfate et son dosage consiste en un dosage d'ion SO_4 .

Celui-ci peut être effectué pondéralement par précipitation et pesée de sulfate de strontium (SILBERBERGER-LANGYEL), mais le procédé qui insolubilise l'acide sulfurique sous forme de sel de baryum est actuellement le plus classique et le plus couramment utilisé.

La double décomposition entre le sulfate à doser et le sel de baryum soluble est effectuée en milieu légèrement chlorhydrique et à l'ébullition, celle-ci ayant pour rôle d'agglomérer le précipité, rendant sa séparation plus facile, et d'éviter l'adsorption de certains produits minéraux ; le sulfate de baryum est calciné, puis pesé.

La présence d'un excès de certains acides tel l'acide nitrique étant nuisible, il sera indispensable d'éliminer ces corps avant de réaliser le dosage.

Quelques méthodes volumétriques ont été proposées : MOHR (24) termine par un dosage acidimétrique de carbonates ; CLEMM (25), SIDERSKY (26), BAUZIL (27), CORDIER (28) modifient plus ou moins la méthode précédente. ANDREWS (29) ramène le dosage à celui iodométrique d'acide chromique. RASCHIG (30), GAUVIN et SKARZINSKY (31) insolubilisent l'ion sulfurique à l'état de sulfate de benzidine, hydrolysent ce sel et dosent alcalimétriquement l'acide libéré ; Mme

(24) MOHR. — *Annal. der Chem. Pharm.*, t. 15, p. 165.

(25) CLEMM. — *Zeitschr. f. Analyt. Chem.*, t. 9, p. 122.

(26) SIDERSKY. — *Moniteur Scient.*, 1888, p. 1132.

(27) L. BAUZIL. — *Journ. Pharm. Chim.* (7) 1918, t. 17, page 189.

(28) M. CORDIER. — *Journ. Pharm. Chim.* (7) 1918, t. 17, p. 193.

(29) ANDREWS. — Voir TREADWELL. — *Manuel de Chimie analytique*, 4^e éd., 1924, t. 2, p. 667.

(30) RASCHIG. — *Zeitsch. Angewan. Chem.*, 1903, t. 16, page 617 et page 818.

(31) GAUVIN et SKARZINSKY. — *Bull. Soc. Chim.* 1913, t. 20, p. 12.

POHORECKA-LESLEZ (32), LESURE et DUNEZ (33) et d'autres utilisent des techniques basées sur ce principe.

BAUZIL (34) a examiné divers procédés de dosage et considère comme la plus précise la méthode par pesée de sulfate de baryum. ECHEVIN et CRÉPIN (35), BERTRAND et SILBERSTEIN (36) obtiennent, grâce à cette dernière, d'excellents résultats, aussi est-ce à elle que nous nous sommes adressé.

II. — DOSAGE DU PHOSPHORE

Le dosage du sodium à l'état d'acétate triple d'uranyle, de magnésium et de sodium ne pouvant être effectué qu'en l'absence d'ion phosphorique, il était intéressant d'éliminer le phosphore de la solution sous une forme qui puisse en permettre le dosage. Les méthodes de dosage du phosphore, amené sous forme de phosphate, seront, de ce fait, en nombre assez restreint.

La méthode courante consiste à insolubiliser l'ion phosphorique sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien en versant dans la solution neutre de phosphate, une mixture renfermant chlorure d'ammonium, chlorure de magnésium et ammoniacque. Après un repos de 12 heures, le précipité, convenablement lavé à l'eau ammoniacale, est séché puis

(32) Mme POHORECKA-LESLEZ. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, t. 9, p. 263.

(33) A. LESURE et A. DUNEZ. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 879.

(34) L. BAUZIL. — Thèse Pharmacie, Toulouse, 1918.

(35) R. ECHEVIN et A. CRÉPIN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 1248.

(36) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1930, t. 47, p. 95.

calciné. Du poids de pyrophosphate on déduit le poids de phosphore.

NEUBAUER et GOÛCH ont remarqué que dans ces conditions le phosphate ammoniaco-magnésien PO^4MgNH^4 pouvait être souillé de phosphate trimagnésien $(\text{PO}^4)^2\text{Mg}^3$ et du sel complexe $(\text{PO}^4)^2\text{Mg}(\text{NH}^4)^4$ si bien, que l'on pesait après calcination, un mélange d'ortho, de méta et de pyrophosphate. Par contre, la précipitation à chaud n'a fourni à ces auteurs que PO^4MgNH^4 bien cristallisé.

Une technique, s'appuyant sur ces données, a été mise au point par SCHMITZ (37). Elle consiste à acidifier légèrement la solution de phosphate, à l'additionner de chlorure d'ammonium et d'un grand excès de la mixture magnésienne acide :

Cl^2Mg , 6 OH ²	55 gr
ClNH^4	105 gr.
ClH	1 cc.
OH ² q.s.	1.000 cc ³

Dans cette solution bouillante, on précipite l'ion phosphorique par addition lente d'ammoniaque.

Mais, cette excellente technique devient insuffisante lorsqu'on désire doser le phosphore dans un milieu complexe, les phosphates de calcium, de fer et d'aluminium précipitant en même temps que le phosphate ammoniaco-magnésien.

FINKENER (38) avait remarqué que, lorsqu'on ajoute à une solution de phosphate du nitrate d'ammonium et un léger excès de molybdate d'ammonium,

(37) SCHMITZ. — Voir TREADWELL. — Manuel de Chimie analytique, 4^e éd., 1924, t. 2, p. 399.

(38) FINKENER. — *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 1898, t. 11, p. 1640.

tout l'acide phosphorique précipite à l'ébullition sous forme d'une combinaison jaune :



Quand la précipitation a lieu en milieu complexe, ce sel renferme de petites quantités des autres métaux existant dans la solution ; pour le purifier, on le dissout dans l'ammoniaque et on le reprécipite à l'ébullition par l'acide nitrique. SONNENSCHN (39), WOY (40), puis SCHMITZ (41), insolubilisent le phosphore à l'état de phosphomolybdate qu'ils purifient et transforment ensuite en phosphate ammoniaco-magnésien.

Nous avons combiné les deux techniques de SCHMITZ en opérant de la manière suivante : on précipite à chaud le phosphate ammoniaco-magnésien, ce sel est dissous dans l'eau nitrique, puis on insolubilise le phosphomolybdate d'ammonium qui est ensuite purifié et redissous dans l'ammoniaque. L'ion phosphorique est alors précipité à chaud sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien ; le dosage est enfin terminé par pesée de pyrophosphate.

Parmi les méthodes volumétriques, celle à l'acétate d'uranyle due à LECONTE et mise au point par PINCUS (42), ne nous a pas paru intéressante, le phosphate d'uranyle précipité adsorbant avec facilité le sodium que nous désirions doser ensuite dans le filtrat. Les microméthodes n'ont pas retenu notre atten-

(39) SONNENSCHN. — *Journ. f. prakt. chem.*, 1851, t. 53, p. 343.

(40) WOY. — *Chem. Zeit.*, 1897, t. 21, p. 442.

(41) SCHMITZ. — Voir TREADWELL. — *Manuel de Chimie analytique*, 4^e éd., t. 2, p. 401.

(42) PINCUS. — Voir TREADWELL, t. 2, p. 668.

tion, le phosphore existant toujours en grande abondance dans les cendres de Champignons.

III. — DOSAGE DU CHLORE

Ainsi que nous l'avons indiqué précédemment, il est très difficile d'obtenir une solution dépourvue de matières organiques et renfermant quantitativement le chlore initial à l'état de chlorures. Certaines méthodes par voie sèche, comme celle à la chaux (43) (calcination en présence de OCa) et celle de WARUNIS (44) (fusion avec $\text{HOK} + \text{O}^2\text{Na}^2$) permettent, il est vrai, de réaliser ces deux conditions, mais elles sont actuellement abandonnées, étant trop longues et délicates.

Parmi les procédés par voie humide, la méthode de CARIUS (45) a toujours été reconnue comme étant la plus sûre ; elle consiste à détruire la matière organique par l'acide azotique chaud sous pression en présence de nitrate d'argent. Dans cette opération, le chlore libéré est amené sous forme d'acide chlorhydrique par l'acide nitreux formé dans l'oxydation, puis insolubilisé à l'état de chlorure d'argent. Le dosage est ensuite effectué soit pondéralement par pesée de ce sel, soit volumétriquement en déterminant, à l'aide d'une solution titrée de thiocyanate en présence d'un sel ferrique, l'excès non combiné au chlore, d'une quantité connue de nitrate d'argent mise précédemment en réaction.

(43) Voir TREADWELL. — Manuel de Chimie Analytique, 4^e éd., t. 2, p. 305.

(44) WARUNIS. — Voir TREADWELL, p. 306.

(45) CARIUS, — Voir TREADWELL, p. 302.

Cette méthode, d'une exactitude remarquable, est cependant peu pratique car elle nécessite la manipulation délicate et dangereuse de tubes scellés et, de plus, la quantité de substance organique que l'on peut détruire sans danger d'explosion du tube est souvent trop réduite pour fournir un dosage précis. Cependant, on a pu parer à ces deux graves défauts et conserver à la méthode toute sa valeur en réalisant l'oxydation sous la pression atmosphérique.

C'est ainsi que LAUDAT dose le chlore dans le sérum sanguin (46) et dans le sang (47) en décomposant les substances organiques par l'acide nitrique fumant et le permanganate de potassium en présence d'une quantité connue de nitrate d'argent dont il détermine ensuite l'excès volumétriquement.

DELAVILLE et BROUN (48) réalisent la destruction par l'acide nitrique nitreux, en présence de NO^3Ag n/10 en solution nitrique et de permanganate de potassium pulvérisé, dont ils décomposent l'excès par addition de glucose.

KAHANE et Mlle DUMONT (49) attaquent par l'acide nitrique bouillant qu'ils additionnent à plusieurs reprises d'une solution aqueuse saturée de permanganate. L'oxydation, comme dans les méthodes précédentes, n'est pas complète car certains produits, tels que les lipides, résistent partiellement. La solution finale, faiblement colorée en jaune, est diluée et additionnée de toluène qui dissout les graisses et retient

(46) M. LAUDAT. — *Journ. Pharm. Chim.* (7), 1917, t. 16, p. 168-171.

(47) M. LAUDAT. — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. 99, p. 1820.

(48) M. DELAVILLE et D. BROUN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, t. 9, p. 621.

(49) E. KAHANE et Mlle M. R. DUMONT. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, t. 15, p. 1247.

à la surface le chlorure d'argent. Dans la liqueur inférieure limpide, ils déterminent l'excès d'argent à l'aide d'une solution titrée de thiocyanate, en présence d'alun de fer ammoniacal. Mlle DUMONT (50) a appliqué cette technique à de nombreux dosages de chlore dans les tissus animaux.

Nous nous sommes adressé à cette méthode pour doser le chlore dans les champignons desséchés, mais avant de l'appliquer, nous avons désiré examiner sa valeur lorsqu'il s'agit de détruire une grande quantité de substance végétale constituée en majeure partie par de la cellulose : Pour cela, nous avons effectué parallèlement des dosages, sur des échantillons identiques, par cette méthode et par la méthode de CARIUS classique. Afin d'obtenir ces deux échantillons, la poudre du champignon est triturée longuement puis tamisée à plusieurs reprises ; après dessiccation à 100°, deux prises d'essai, de 0,500 gr. chacune, sont prélevées.

L'une d'entre elles est décomposée en tube scellé par chauffage à 180° pendant deux heures avec 10 cc. d'acide nitrique et 5 cc. d'une solution nitrique de $\text{NO}^3 \text{Ag n}/10$. Dans la solution nitrique diluée, on détermine volumétriquement l'excès d'argent.

Le chlore dans le deuxième échantillon a été dosé en suivant très exactement la technique de KAHANE et Mlle DUMONT.

Les dosages comparatifs ont été réalisés sur deux espèces de Champignons, l'une très riche en chlore, *Amanita ovoidea*, l'autre pauvre en cet élément, *Pleurotus olearius*. Les résultats sont les suivants :

(50) Mlle M. R. DUMONT. — Thèse Pharmacie, Paris, 1933.

	Prise d'essai	Méthode Carius	Méthode Laudat-Kohanc
<i>Amanita ovoidea</i>	0,500	0,0106	0,0104
<i>Pleurotus olearius</i>	0,500	0,0006	0,0005

La technique de LAUDAT, modifiée par KAHANE et Mlle DUMONT, permet donc de doser le chlore dans les substances végétalés avec une précision suffisante.

IV. — DOSAGE DU SODIUM

Les méthodes de dosage du sodium sont peu nombreuses, ce métal n'entrant que rarement dans des combinaisons insolubles.

Autrefois, ne pouvant le précipiter, les chimistes le dosaient par différence ; pour cela, ils privaient la solution à examiner des métaux non alcalins, amenaient le sodium et le potassium à l'état de chlorures ou de sulfates et dosaient l'acide combiné et le potassium.

Actuellement, on sait doser pondéralement cet élément en le précipitant sous forme de nitrite triple de bismuth, de césium et de sodium (51), de pyroantimoniate de sodium (52), (53), (54), (55), d'acétate tri-

(51) *Helv. Chim. Acta*, 1925, t. 8, p. 893.

(52) B. KRAMER et F. TISDALL. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, t. 46, p. 467 et t. 48, p. 223.

(53) E.-A. DOISY et R.-D. BELL. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, t. 45, p. 313.

(54) M. RICHTER-QUITTNER. — *Biochem. Ztschr.*, 1923, tome 133, p. 417.

(55) M. BALINT. — *Biochem. Ztschr.*, 1924, t. 150, p. 424.

ple de sodium, d'uranyle et d'un autre métal, soit cobalt (56), zinc (57) ou magnésium (58).

La méthode de dosage de BLANCHETIÈRE, basée sur la réaction qualitative de STRENG (59) (insolubilisation à l'état d'acétate triple de magnésium, d'uranyle et de sodium $3(C^2H^3O^2)^2 UO^2, (C^2H^3O^2)^2 Mg, C^2H^3O^2 Na, 9 OH^2$) fut jusqu'à ces dernières années la technique la plus utilisée : Elle consistait à précipiter le sodium par un réactif résultant du mélange de deux solutions acétiques, l'une d'acétate d'uranyle, l'autre d'acétate de magnésium. Le sel desséché à 105° , considéré comme anhydre, était pesé et le poids divisé par 60,43 donnait le poids de sodium.

KAHANE (60) a montré récemment que cette méthode ne fournissait pas des résultats précis. Le sel précipité renferme 6 molécules d'eau, au lieu de 9, comme l'admettait BLANCHETIÈRE, et, de plus, conserve toute son eau à 150° ; d'autre part, la précipitation, effectuée selon la technique de ce dernier, est incomplète.

KAHANE recommande d'insolubiliser le sodium par un réactif hydro-alcoolique de composition suivante :

Acétate d'uranyle	32 gr.
Acétate de magnésium	100 gr.
Acide acétique	20 cc.
Alcool à 90°	500 cc.
Eau distillée q. s.	1000 cc.

Pour l'obtenir, on chauffe les acétates de magnésium et d'uranyle avec l'acide acétique, l'alcool et environ

(56) E.-C. CALEY. — *Am. Chem. Soc.*, 1929, t. 51, p. 1965.

(57) R. MONTEQUI et R. DE SADABA. — *Anales Soc. españ. Fis. Quim.* (4), 1931, t. 29, p. 255.

(58) A. BLANCHETIÈRE. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1923, t. 33, p. 807.

(59) A. STRENG. — *Chem. Centr. Bl.*, 1886, p. 488.

(60) E. KAHANE. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 382.

300 cc. d'eau; on laisse refroidir, on complète à 1000 cc. et on filtre après quelques heures de repos.

La précipitation, qui doit être faite en milieu sensiblement neutre, est totale en trente minutes; le sel cristallisé avec 8 OH^2 , desséché à 110° , conserve toute son eau; son poids divisé par 66,7 donne celui du sodium.

De nombreux dosages volumétriques ont été proposés, il ne semble pas qu'ils puissent supplanter la méthode de KAHANE qui est excellente.

Cette dernière peut être appliquée en présence d'ammonium, de lithium, de calcium, de magnésium et de potassium lorsque ce dernier métal ne se trouve pas en quantité considérable vis-à-vis du sodium. Seul, l'ion phosphorique, qui fournit avec les sels d'uranyle un précipité de phosphate, doit être éliminé de la solution.

ELIMINATION DE L'ACIDE PHOSPHORIQUE

La séparation de l'ion phosphorique peut être réalisée selon diverses techniques: BLANCHETIÈRE (61) le précipite sous forme de phosphate d'uranyle et dose le sodium dans la liqueur filtrée à l'aide de sa méthode; GRABAR (62) applique la technique de GÉRARD (63) et l'insolubilise à l'état de phosphate ferrique; BOUGAULT et CATTELAÏN (64), sous forme de phosphate de plomb; Mlle DUMONT (65), à l'état de phosphate de

(61) A. BLANCHETIÈRE. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1923, t. 33, p. 807.

(62) P. GRABAR. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, t. 11, p. 58.

(63) P. GÉRARD. — Thèse Sciences, Paris, 1912.

(64) J. BOUGAULT et E. CATTELAÏN. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, t. 14, p. 275.

(65) Mlle M. R. DUMONT. — Thèse Pharmacie, Paris 1933.

magnésium ou de phosphate tricalcique. BLANCHETIÈRE (66) propose également de l'éliminer à froid sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien selon la méthode de FISKE (67) ; Mlle DUMONT (68) recommande la précipitation à froid par la mixture magnésienne.

Mlle DUMONT, qui a examiné comparativement toutes ces méthodes d'élimination, constate que ce sont les phosphates d'uranyle, de fer et de magnésium qui adsorbent le plus de sodium, les phosphates de plomb et de calcium n'en retiennent que des traces, *enfin le phosphate ammoniaco-magnésien est parfaitement exempt de ce métal.*

Tenant compte de cette remarque, nous avons éliminé le phosphore par précipitation à chaud du phosphate ammoniaco-magnésien selon la technique de SCHMITZ (69). Nous avons constaté que ce sel, précipité en présence de sodium, lavé soigneusement à l'eau bidistillée ammoniacale, ne renfermait pas la moindre trace de sodium ; en effet, un fil de platine immergé dans la solution chlorhydrique de ce sel, puis placé dans la flamme d'un bec bunsen, ne colore pas celle-ci en jaune.

Nous avons effectué la précipitation avec la liqueur magnésienne indiquée précédemment, mais comme nous n'avons pu nous procurer du chlorure de magnésium exempt de sodium, nous avons dissous dans l'acide chlorhydrique dilué la quantité correspondante de magnésium.

(60) A. BLANCHETIÈRE. — *Loc. cit.*

(67) C. H. FISKE. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, t. 47, p. 59.

(68) Mlle M. R. DUMONT. — *Loc. cit.*

(69) Voir, p. 47.

V. — DOSAGE DU POTASSIUM

Le dosage du potassium peut être effectué par précipitation à l'état de chloroplatinate et pesée de ce sel ou de platine (70), de phosphomolybdate (71), de perchlorate (72), mais la seule méthode qui est couramment employée est celle qui insolubilise le potassium sous forme de cobaltinitrite double de potassium et de sodium $\text{Co}(\text{NO}_2)_2 \cdot \text{K}_2\text{Na}$.

Cette réaction, connue dès 1848 grâce à FISCHER (73) ne fut appliquée que beaucoup plus tard aux méthodes quantitatives ; actuellement de multiples techniques, volumétriques ou pondérales, sont basées sur la formation de ce complexe.

GAROLA et BRAUN (74) dosent gravimétriquement le potassium en l'insolubilisant par un réactif résultant du mélange à parties égales des deux solutions suivantes :

	Nitrate de cobalt	28,6 gr.
1	Acide acétique	50 cc.
	Eau distillée q. s.	500 cc.
2	Eau distillée q. s.	500 cc.
	Nitrite de sodium	180 gr.

Par filtration après 24 heures de contact, on élimine toute trace de potassium pouvant être renfer-

(70) COREWINDER et CONTAMINE. — *C. R. Ac. Sc.*, 1879, t. 89, p. 907.

(71) RAULIN. — *C. R. Ac. Sc.*, 1890, t. 110, p. 289.

(72) SÉRULAS. — *Ann. Chim. Phys.*, 1831, t. 46, p. 297.

(73) W. FISCHER. — *Ann. Ph. Pogg.*, 1848, t. 14, p. 115.

(74) GAROLA et BRAUN. — *Ann. des falsifications*, 1917, p. 572.

mée dans les produits employés. Ce réactif pourra être conservé dans un flacon bouché à l'émeri placé à l'abri de la lumière, mais il sera préférable de le préparer peu de temps avant son usage.

La précipitation devra être réalisée sur une solution privée des autres métaux, à l'exception du sodium qui ne gêne pas le dosage ; elle sera totale en 12 heures. Le poids de cobaltinitrite desséché divisé par 0,2074 donne celui du potassium précipité.

Les microméthodes volumétriques de ADIE et WOOD (75), DRUSHEL (76), KRAMER (77), KRAMER et TISDALL (78), MOUSSERON (79), LEULIER, VELLUZ et GRIFFON (80) et autres ne présentent ici aucun avantage sur l'excellente et simple méthode pondérale, le potassium à doser existant toujours en quantités relativement élevées.

VI. — DOSAGE DU CALCIUM

Les méthodes sont très nombreuses mais celles, qui permettent de doser ce métal dans un milieu complexe tout en fournissant une solution dans laquelle on peut doser ensuite le magnésium, sont presque toutes basées sur l'insolubilité de l'oxalate neutre de calcium.

(75) R.-H. ADIE et T.-B. WOOD. — *Journ. of Chem. Soc.*, 1900, t. 77, p. 1076.

(76) W.-A. DRUSHEL. — *Amer. Journ. of Sc.*, 1908, t. 24, page 433.

(77) B. KRAMER. — *Journ. Biol. Chem.*, 1920, p. 263.

(78) B. KRAMER et F. F. TISDALL. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, t. 46, p. 339 et t. 48, p. 223.

(79) M. MOUSSERON. — Thèse Pharmacie Montpellier 1927.

(80) A. LEULIER, VELLUZ et GRIFFON. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, p. 891.

Plusieurs techniques pondérales ont été utilisées : JARVINEN (81), PAGUIREF (82), DICK (83) terminent le dosage par pesée d'oxalate de calcium ; FREDERICK, GUTHRIE et BARKER (84), calcinent ce sel et pèsent l'oxyde ; CANALS (85) détermine la quantité de calcium du poids d'oxyde ou de carbonate.

Cependant, les méthodes volumétriques sont beaucoup plus couramment utilisées ; elles se divisent en deux groupes : les procédés manganimétriques qui déterminent, par oxydation, l'acide oxalique du sel et, d'autre part, ceux, acidimétriques, qui dosent l'oxyde de calcium issu de la calcination de l'oxalate.

Les méthodes manganimétriques sont multiples : (KRUGER (86), L. de KONINCK (87), etc.), et ont été fréquemment appliquées au dosage du calcium sanguin (KRAMER et HOWLAND (88), KRAMER et TISDALL (89), CRISTOL (90), etc...). Les techniques acidimétriques ont été surtout étudiées en vue d'établir la calcémie ; parmi elles, signalons la méthode de HIRTH (91), qui consiste à reprendre l'oxalate inci-

(81) JARVINEN. — *Zeit. Anal. Ch.*, 1904, t. 43, p. 559.

(82) V. PAGUIREF. — *Journ. Soc. Phys. Chim. R.*, 1902, t. 34, p. 195.

(83) J. DICK. — *Zeit. Anal. Ch.*, 1929, t. 77, p. 352.

(84) M. FREDERICK, B. GUTHRIE et C.-R. BARKER. — *J. Roy. Soc. N. S. Wales*, t. 36, p. 132.

(85) E. CANALS. — Thèse Sciences, Montpellier, 1920.

(86) M. KRUGER. — *Ztschr. physiol. Chem.*, 1892, t. 16, p. 445.

(87) L. DE KONINCK. — *Bull. de l'Assoc. belge des Chimistes*, février 1900, p. 69.

(88) B. KRAMER et J. HOWLAND. — *Journ. Biol. Chem.*, t. 43, p. 35.

(89) B. KRAMER et F.-F. TISDALL. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, t. 47, p. 475.

(90) P. CRISTOL. — *Bull. Sc. Pharm.*, 1922, n. 2, p. 79.

(91) A. HIRTH. — *C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. 88, p. 458.

né par l'acide chlorhydrique $n/40$ et à déterminer l'excès par la soude $n/100$ en présence de rouge de méthyle.

Nous avons eu recours à la méthode manganimétrique classique lorsque la proportion de calcium était importante ; dans le cas de faibles quantités, la technique de HIRTH, qui permet d'apprécier 0,02 mg. de calcium, nous a paru préférable.

VII. — DOSAGE DU MAGNESIUM

La seule méthode de dosage, applicable à une solution renfermant à côté du magnésium des métaux alcalins, consiste à insolubiliser ce métal sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien. On réalise cette précipitation, en ajoutant à la solution initiale, du chlorure d'ammonium, du phosphate de sodium et de l'ammoniaque (92) ; on termine le dosage par calcination du phosphate ammoniaco-magnésien et pesée du pyrophosphate.

Lorsque nous avons eu à doser des quantités relativement élevées de métal, nous avons eu recours à cette méthode qui est la plus couramment appliquée.

Plusieurs méthodes volumétriques ont été utilisées : KLINGENFUSS (93), précipite le magnésium à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien par de l'acide arsénique dont l'excès est apprécié iodométriquement ; KOLTHOFF (94) insolubilise, par la soude, l'hydroxyde

(92) E. CANALS (loc. cit.) a constaté que les quantités de ces trois composés pouvaient varier dans de larges limites sans influencer les résultats.

(93) M. KLINGENFUSS. — *Zeit. anorg. Ch.*, 1924, t. 138, p. 195.

(94) I.-M. KOLTHOFF. — *Rec. tr. ch. P.B.*, 1922, t. 46, p. 787.

de magnésium qu'il sépare et dose acidimétriquement. Mais les principales techniques microanalytiques consistent à déterminer avec précision soit l'ion PO_4^{3-} , soit l'ammoniac dans le phosphate ammoniacomagnésien précipité. CANALS (15), dose le phosphore par la méthode à l'uranyle en présence de teinture de cochenille et apprécie 2/10 de mg. de magnésium ; Mlle DAUCAN (96) remarque que la précipitation doit être effectuée à un pH compris entre 6 et 6,6 pour obtenir des résultats corrects. Le microdosage de l'ammoniac peut être réalisé par colorimétrie, méthode basée sur la coloration plus ou moins intense que prend le réactif de NESSLER sous l'action des sels ammoniacaux, qui, selon CANALS permet d'apprécier 1/100 de mg. de métal ; mais le meilleur procédé est celui de MOUSSERON (97) qui consiste à déplacer l'ammoniac par la soude, à l'entraîner par un courant de vapeur d'eau dans l'appareil de PARNAS et WAGNER et à le recevoir dans une solution d'acide sulfurique dont on détermine alcalimétriquement l'excès.

C'est cette dernière méthode, très rapide et d'une grande précision, qui nous a permis de doser le magnésium lorsqu'on ne pouvait le faire pondéralement.

DOSAGE SIMULTANÉ DU CALCIUM ET DU MAGNÉSIUM DANS UN MILIEU COMPLEXE

CANALS (98) a mis au point une excellente technique de dosage du calcium dans les milieux complexes,

(95) E. CANALS. — Thèse Sciences, Paris 1920.

(96) Mlle G. DAUCAN. — Thèse Pharmacie, Montpellier, 1928.

(97) M. MOUSSERON. — Thèse Pharmacie, Montpellier, 1927.

(98) E. CANALS. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1918, t. 23; 1919, t. 25; 1921, t. 29, p. 152 et 583; 1922, t. 31, p. 186.

permettant également de doser le magnésium en utilisant une seule prise d'essai. Ce procédé est basé sur une remarque de Astruc (99) indiquant que, seul, le calcium précipite en milieu acétique à l'état d'oxalate lorsque le magnésium se trouve à une concentration inférieure à 1/700 en OMg.

Le fer et l'aluminium sont éliminés, en ajoutant à la liqueur complexe de l'ammoniaque, puis de l'acide acétique goutte à goutte en agitant fortement (100) ; dans la liqueur filtrée, on précipite le calcium à l'ébullition à l'état d'oxalate, puis dans le filtrat concentré, on insolubilise le magnésium sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien.

VIII. — DOSAGE DU MANGANESE

Le manganèse ayant toujours été rencontré dans les organismes vivants en quantités extrêmement réduites, nous n'exposerons ici que quelques-unes des techniques qui ont permis son microdosage. Ce métal a été depuis longtemps mis en évidence, même avant de pouvoir être dosé, grâce à la remarquable propriété qu'il possède d'être transformé facilement en composés intensément colorés. Les techniques de recherches ou de microdosages ont donc toujours eu pour but d'amener le manganèse sous forme de manganate vert ou, mieux encore, de permanganate rouge violacé.

Dès 1874, BRUNNER (101) transforme le manganèse

(99) A. ASTRUC. — *Journ. Pharm. Chim.* (7), t. 16, p. 65.

(100) Dans ces conditions, on évite l'adsorption du calcium et du magnésium par le précipité.

(101) A. BRUNNER. — *Bull. Soc. Chim.*, 1874, t. 21, p. 278.

en manganate de sodium par calcination à l'air en présence de soude, puis compare la coloration de la liqueur verte obtenue à celle d'une solution préparée dans les mêmes conditions et renfermant une quantité connue de métal. PICHARD (102) oxyde à l'air avec du carbonate de potassium et reprend la masse par l'acide nitrique ; il dose ensuite colorimétriquement à l'aide de solutions étalons.

Cependant les seules méthodes qui soient vraiment précises sont dues à BERTRAND (103). Cet auteur indique deux procédés d'oxydation basés l'un sur l'emploi du persulfate de potassium, l'autre sur celui du bioxyde de plomb. Pour ces deux procédés, les cendres doivent être préparées selon une technique spéciale, de manière à ne contenir ni charbon, ni chlorures et à renfermer tout le manganèse sous une forme aisément soluble. La calcination sera effectuée avec ou sans reprise par l'eau suivant la teneur des cendres en matières fusibles (104).

(102) P. PICHARD. — *C. R. Ac. Sc.*, 1898, t. 126, p. 550.

(103) G. BERTRAND. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1911, t. 9, p. 361.

(104) On pourrait éviter la fusion de la masse et par suite la reprise par l'eau en ajoutant à la substance sèche pulvérisée une petite quantité de silice (2 à 3 %); mais lorsqu'on désire faire passer le manganèse en solution, la silice ajoutée devient gênante du fait que la solution finale filtrée ne doit pas excéder 10 cc.

Cet essai nous a été suggéré par G. MOUSSERON qui était parvenu à transformer à haute température le sulfate acide de sodium en sulfate neutre sans fondre la masse grâce à l'addition préalable d'une petite quantité de silice,

Oxydation par le persulfate de potassium

Le principe de cette méthode, dû à MARSHALL (105) est le suivant : lorsqu'on chauffe une solution aqueuse neutre ou faiblement acide de sel manganoux avec du persulfate de potassium, tout le manganèse se précipite à l'état de bioxyde hydraté MnO^3H^2 ; mais, lorsqu'on opère l'oxydation en présence de nitrate d'argent, le manganèse, plus fortement oxydé, se retrouve sous forme d'acide permanganique. L'oxydation serait due à la formation d'un composé intermédiaire O^2Ag^2 ou, selon TRAVERS, O^2Ag^2 , NO^3Ag (106). Se basant sur cette réaction, BERTRAND a mis au point une technique colorimétrique très sensible.

Oxydation par le bioxyde de plomb

BERTRAND s'appuie sur une réaction d'oxydation du manganèse, découverte par CRUM (107), qui consiste à transformer le métal en acide permanganique grâce à l'action combinée du bioxyde de plomb et de l'acide nitrique.

Les cendres sulfatées sont dissoutes dans l'acide nitrique $d = 1,33$ additionné de son volume d'eau (108) ; la solution, amenée à un volume connu, est maintenue 2 à 3 minutes à l'ébullition avec 5 % de bioxyde. Le dosage s'effectue ensuite par comparaison avec des tubes préparés extemporanément de la même manière et renfermant des quantités connues de métal.

(105) H. MARSHALL. — *Chem. News*, 1901, t. 83, p. 76.

(106) A. TRAVERS. — *C. R. Ac. Sc.* 1926, t. 182, p. 972.

(107) W. CRUM. — *Annal. der Chim. u. Pharm.*, 1845, t. 35, p. 219.

(108) L'oxydation, pour être quantitative, nécessite de l'acide nitrique fort ; mais lorsque celui-ci est trop concentré, sa densité trop élevée empêche la formation rapide du dépôt d'oxyde.

BERTRAND recommande la méthode au persulfate de potassium qui, selon lui, est aussi précise que celle au bioxyde de plomb et beaucoup plus rapide, le dépôt de bioxyde ne se formant que lentement ; par contre, la méthode au bioxyde de plomb présente l'avantage de permettre l'oxydation, même en présence de traces d'acide chlorhydrique et, d'autre part, l'ébullition est beaucoup plus régulière et les projections moins à craindre que dans la méthode au persulfate surtout lorsque, vers la fin de l'opération, on détruit l'excès de cet oxydant.

Nous avons donné la préférence à la technique au bioxyde que nous avons rendue aussi rapide que l'autre en opérant l'oxydation dans des tubes et en centrifugeant à 3.000 tours/minute. En quelques instants, on obtient une solution parfaitement limpide surnageant le culot de bioxyde.

TROISIEME PARTIE

TECHNIQUE GÉNÉRALE

Après avoir exposé successivement les divers modes de destruction de la matière organique et les méthodes analytiques les plus précises et les plus rapides, nous allons décrire les diverses manipulations nécessaires pour ces dosages.

I. — OBTENTION DES PRODUITS SECS

Les Champignons, dès leur arrivée au laboratoire, ont été lavés avec grand soin à l'eau distillée afin d'éliminer les débris végétaux étrangers et la terre qui adhèrent généralement à la base du pied et à la partie supérieure du chapeau, puis essuyés rapidement à l'aide de papier filtre. Les individus plus gros ont été coupés en tranches assez fines et les fragments ont été disposés dans des cristallisoirs.

La dessiccation a été réalisée par exposition au soleil toutes les fois que cela a été possible. Au printemps et en automne, elle dût être effectuée dans des cloches à vide en présence d'acide sulfurique concentré. Bien que le vide soit contrôlé chaque jour et l'acide souvent renouvelé, la dessiccation par ce procédé, fort longue, nécessite souvent une à deux semaines.

Les Champignons, parfaitement desséchés, sont ensuite pulvérisés dans un mortier de verre et la pou-

dre obtenue rendue homogène à l'aide de tamisations successives. La poudre est de nouveau maintenue dans le vide sulfurique pendant 24 heures, puis conservée en flacons bien bouchés et paraffinés (109).

II. — OBTENTION DES CENDRES

15 grammes environ de poudre desséchée sont placés dans une capsule de quartz que l'on introduit dans un four à moufle chauffé au rouge à peine visible. Les substances organiques brûlent ; on triture de temps à autre la masse charbonneuse à l'aide d'un fil de platine, pour favoriser la combustion.

Lorsque toute la substance a noirci et que le charbon commence à brûler, on reprend par 20 à 30 cc. d'eau distillée chaude ; on filtre, on lave avec quelques cc. d'eau et on conserve le filtrat. Le filtre est introduit dans la capsule de quartz et, après dessiccation, on la replace dans le moufle chauffé comme précédemment jusqu'à l'obtention de cendres peu colorées. On verse alors le filtrat précédent dans la capsule refroidie, on évapore complètement et on calcine de nouveau au rouge sombre pendant quelques instants. Par pesée, on détermine le pourcentage de cendres correspondant au produit sec. Les cendres ainsi obtenues vont permettre le dosage du phosphore, du sodium, du potassium, du calcium et du magnésium.

(109). La poudre de certains champignons est très hygroscopique.

III. — DOSAGES DU PHOSPHORE, DU SODIUM DU POTASSIUM, DU CALCIUM ET DU MAGNESIUM

1° MISE EN SOLUTION

Les cendres sont humectées par 1 ou 2 cc. d'acide chlorhydrique à 30 %, puis on évapore au bain-marie ; cette opération est renouvelée trois fois afin d'insolubiliser complètement la silice.

Le résidu est alors repris par 30 cc. d'eau distillée bouillante renfermant 1 % d'acide chlorhydrique et, pour favoriser la dissolution des sels, la capsule est maintenue pendant quelques minutes au bain-marie bouillant. On sépare, par filtration, la silice insoluble, on lave à deux reprises la capsule et le filtre avec l'acide dilué et on porte le volume du filtrat à 50 cc.

Le filtrat sera divisé en deux parties : sur 15 cc. exactement mesurés on dosera le phosphore et le sodium, les 35 cc. restant étant réservés aux dosages successifs du calcium, du magnésium et du potassium.

2° DOSAGES DU PHOSPHORE ET DU SODIUM

a) *Séparation*

La solution dans laquelle on désire doser le sodium à l'état d'acétate triple devant être privée de phosphore, nous avons suivi la technique suivante qui permet de déterminer, sur une même prise d'essai, le phosphore, puis le sodium.

La solution faiblement chlorhydrique précédente (15 cc.) est additionnée de 30 cc. d'eau distillée, de 10 cc. de solution saturée de chlorure d'ammonium, de 10 cc. de mixture magnésienne (110), puis est por-

(110- Formule, p. 52.

tée à l'ébullition. On verse alors lentement à la pipette et en agitant constamment de l'eau ammoniacale à 5 %, de manière à obtenir un précipité bien cristallin (111), jusqu'à ce que la solution présente une odeur forte d'ammoniac ; on additionne alors le liquide refroidi du $\frac{1}{5}$ de son volume d'ammoniaque concentrée. Après dix minutes de repos, la liqueur et le précipité sont séparés par filtration et ce dernier est lavé à l'eau ammoniacale à 5 % jusqu'à ce que le liquide qui s'écoule, acidulé par l'acide nitrique, ne se trouble plus par addition de nitrate d'argent.

Le phosphore se trouve alors en totalité sur le filtre et la liqueur renferme quantitativement le sodium.

b) *Dosage du phosphore*

Le précipité renfermant du phosphate ammoniacomagnésien, des phosphates de calcium, de fer, et peut-être d'aluminium, est redissous sur le filtre dans de l'acide nitrique dilué de manière à obtenir un volume de 50 cc. environ. Ce liquide est additionné de 30 cc. de solution de nitrate d'ammonium à 30 % et de 10 cc. d'acide nitrique ; la solution est portée à l'ébullition et on y verse très lentement, en agitant, 120 cc. d'une solution chaude de molybdate d'ammonium (112). On continue à agiter et on abandonne quinze minutes ; le phosphomolybdate d'ammonium précipite quantitativement.

Le liquide surnageant est décanté, le précipité est lavé avec 50 cc. d'eau nitrique à 1/10, puis dissous

(111) Dans le cas où l'on obtiendrait un trouble laiteux, on redissolverait par addition d'acide chlorhydrique et on recommencerait la précipitation.

(112) Obtenue en dissolvant 30 gr. de $M^{7}O^{24} (NH^4)^6, 4 OH^2$ dans 1.000 cc. d'eau.

dans 10 cc. d'ammoniaque à 1/10. La liqueur est additionnée de 20 cc. de la solution de nitrate d'ammonium, de 30 cc. d'eau, de 1 cc. de solution de molybdate d'ammonium et, à l'ébullition, de 20 cc. d'acide nitrique chaud. On obtient ainsi un précipité de phosphomolybdate d'ammonium pur que l'on laisse déposer dix minutes et que l'on recueille ensuite sur un filtre.

Le sel est ensuite dissous dans de l'eau ammoniacale à 5 % chaude et la solution est acidifiée par l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que le précipité commence à se reformer. On le redissout en ajoutant la quantité minimum d'eau ammoniacale ; on précipite, dans cette liqueur, le phosphate ammoniaco-magnésien en suivant exactement la technique utilisée pour la séparation (113) de l'ion phosphorique et du sodium. On filtre, on calcine au moufle fortement chauffé et on pèse le pyrophosphate de magnésium.

c) Dosage du sodium

Les eaux-mères (environ 100 cc.) sont évaporées à siccité dans une capsule de platine ; celle-ci est ensuite chauffée au bain de sable avec précaution (pour éviter les projections) au voisinage de 100°, puis plus fortement pour éliminer, par volatilisation, la grande quantité de chlorure d'ammonium ajoutée précédemment.

Le résidu est repris par quelques cc. d'eau chlorhydrique à 1 % ; la solution est neutralisée par l'ammoniaque, diluée puis acidifiée par quelques gouttes d'acide acétique ; la liqueur est ensuite additionnée de dix fois son volume de réactif de KAHANE (114). On

(113) Voir p. 72.

(114) Formule p. 58.

frotte les parois du récipient avec une baguette de verre pour amorcer la cristallisation du sel et on continue d'agiter le liquide une ou deux minutes afin d'obtenir un précipité plus grenu. Le bécher est ensuite recouvert d'un verre de montre, pour éviter l'évaporation, et on le laisse pendant trente minutes à l'abri de la lumière vive (115).

Le liquide est alors décanté sur creuset de Gooch G. 4 desséché et taré ; le précipité lavé avec 10 cc. de réactif, puis, à deux reprises, avec 5 cc. d'alcool à 95°, est ensuite entraîné à l'aide de ce liquide (116). Le creuset et son contenu sont desséchés à l'étuve à 110° pendant trente minutes, puis sont pesés.

3° DOSAGES DU CALCIUM, DU MAGNÉSIUM ET DU POTASSIUM

Le calcium et le magnésium seront dosés selon la technique de CANALS (117). Après séparation de ces deux métaux, la liqueur ne renfermant plus que les cations Na^+ , NH_4^+ et K^+ , il sera possible, en éliminant les sels d'ammonium, de doser le potassium.

a) *Elimination du fer et de l'aluminium*

Les 35 cc. provenant de la dissolution des matières minérales dans l'acide chlorhydrique dilué sont additionnés d'ammoniaque jusqu'à alcalinité au tournesol; il se précipite ainsi des phosphates de fer, d'aluminium, de calcium et ammoniaco-magnésien. On verse alors goutte à goutte, en agitant fortement, de l'acide

(115) La lumière favorise la réduction de l'ion uranyle jaune en ion uraneux vert.

(116) Il faut éviter d'employer une trop grande quantité d'alcool à 95°, l'acétate triple étant légèrement soluble dans ce liquide.

(117) Voir p. 65.

acétique jusqu'à réaction franchement acide et on continue à agiter une ou deux minutes ; on filtre, puis on lave le filtre avec de l'eau acétique à 1 % bouillante.

b) Dosage du calcium

Le filtrat est alors porté à l'ébullition, puis additionné de 10 cc. d'une solution d'oxalate d'ammonium à 5 %. Le précipité d'oxalate neutre de calcium se dépose et on contrôle que l'addition d'une nouvelle quantité d'oxalate d'ammonium ne trouble plus la liqueur. Le précipité est recueilli le plus rapidement possible, puis lavé à l'eau bouillante jusqu'à ce que quelques cc. de filtrat, acidulés par l'acide sulfurique, ne décolorent plus à chaud 2 à 3 gouttes d'une solution de permanganate à 1 0/00. On le dissout dans l'acide sulfurique dilué, on chauffe la solution vers 70° et on verse une solution titrée de permanganate de potassium jusqu'à légère coloration rose.

Lorsque la quantité d'oxalate est très réduite, le filtre et son contenu sont desséchés à 100°, puis calcinés fortement dans une capsule de platine ; le résidu refroidi est repris par 2 cc. d'acide chlorhydrique n/40 et la capsule est maintenue au bain-marie jusqu'à dissolution ; le liquide est additionné de 1 à 3 gouttes de solution de rouge de méthyle et on titre l'excès d'acide en versant de la soude n/100 jusqu'à virage au jaune serin.

c) Dosage du magnésium

Le liquide privé d'oxalate de calcium et les eaux de lavage sont acidulés par 5 gouttes d'acide chlorhydrique pur, puis concentrés, par évaporation, à un volume de 20 à 25 cc. On y ajoute 10 cc. de solution

saturée de chlorure d'ammonium, de l'ammoniaque jusqu'à réaction franchement alcaline et 10 cc. de phosphate d'ammonium à 1/15. On agite pour favoriser la précipitation du phosphate ammoniaco-magnésien et on abandonne 12 heures.

Si la quantité de phosphate ammoniaco-magnésien paraît assez élevée, on recueille le précipité sur un filtre et on le lave à l'eau ammoniacale à 5 %, on le dessèche à 100°, on le calcine et on pèse le pyrophosphate.

Lorsque, au contraire, la proportion est très faible, le précipité est émulsionné et la suspension entraînée dans un tube à centrifugation. On centrifuge, on décante la solution surnageante, le sel est émulsionné de nouveau dans de l'alcool à 95°, on maintient dix minutes au bain-marie vers 60° et on centrifuge ; on recommence ce lavage une seconde fois. Le précipité est alors redissous par addition de quelques gouttes d'acide sulfurique et la solution est introduite dans le ballon de l'appareil de PARNAS et WAGNER. Après addition de plusieurs cc. de soude à 10 %, l'ammoniac est entraîné par un courant de vapeur d'eau et est recueilli dans de l'acide sulfurique n/100. On titre ensuite l'excès d'acide par la soude n/100 en présence de rouge de méthyle.

d) *Dosage du potassium*

Le filtrat et les eaux-mères sont évaporés à siccité dans une capsule de platine et le résidu est calciné sur un bec Bunsen jusqu'à disparition complète des fumées blanches de chlorure d'ammonium. Le résidu froid est repris par l'eau, la liqueur est neutralisée par la soude, acidifiée par l'acide acétique et portée à 50 cc. exactement.

A 20 cc. de cette solution, on ajoute goutte à goutte et en agitant, 30 cc. de réactif cobaltinitreux de GAROLA et BRAUN (118) et on recouvre le récipient d'un verre de montre ; après douze heures de repos, le liquide est décanté sur filtre taré et le précipité est lavé, par décantations successives, avec une solution à 10 % d'acide acétique jusqu'à ce que les eaux de lavage soient incolores.

Le précipité, entraîné sur filtre, lavé à deux reprises avec 5 cc. d'alcool à 95° (119) desséché à 100°, est ensuite pesé.

IV. — DOSAGE DU SOUFRE

4 gr. environ de poudre desséchée sont introduits dans un matras kjeldahl avec 2 gr. de nitrate de potassium et 10 cc. d'acide nitrique fumant, parfaitement exempt d'acide sulfurique. La masse s'échauffe et se boursoufle par le dégagement des vapeurs nitreuses ; on refroidit le matras pour calmer la réaction et on laisse macérer pendant douze heures la matière végétale dans l'acide. On chauffe alors le matras avec précaution et on règle le feu de manière à éviter que la mousse atteigne le col du ballon. Lorsque cette première phase de l'oxydation est terminée, on obtient une solution jaune orangée que l'on continue à chauffer en remplaçant, au fur et à mesure, l'acide nitrique qui disparaît.

Après plusieurs heures, on obtient un liquide incolore ou faiblement jaunâtre. Celui-ci est évaporé à siccité et le résidu est additionné, à plusieurs reprises,

(118) Formule, p. 61.

(119) Le lavage à l'alcool a pour but d'entraîner l'eau,

d'acide chlorhydrique concentré que l'on élimine ensuite par évaporation. Les substances minérales sont traitées par 50 cc. d'eau chaude légèrement chlorhydrique et la silice insoluble est séparée par filtration.

Le filtrat est porté à l'ébullition et est additionné de quelques cc. d'une solution chaude de chlorure de baryum à 5 % ; on laisse ensuite déposer le sulfate de baryum qu'on lave à l'eau bouillante par décantations successives. Le sel insoluble est recueilli sur un filtre, lavé, desséché, calciné (120) et pesé.

V. — DOSAGE DU CHLORE

Dans un Erlenmeyer, on introduit successivement 1 à 2 gr. de poudre végétale, 5 cc. d'une solution de nitrate d'argent $n/5$ et 20 cc. d'acide nitrique concentré. On chauffe pour commencer l'oxydation et on verse par petites fractions, tout en maintenant l'ébullition, 30 à 40 cc. d'une solution saturée de permanganate de potassium ; on constate que l'oxydation est totale lorsque l'addition d'une nouvelle quantité de permanganate ne modifie pas la teinte jaune pâle de la liqueur.

La solution est alors diluée avec de l'eau distillée, agitée avec quelques cc. de toluène et additionnée de 2 cc. d'alun de fer ammoniacal en solution saturée ; on titre l'excès d'argent en versant une solution de thiocyanate de potassium $n/50$ jusqu'à légère coloration rose.

(120) La calcination étant effectuée au moufle fortement chauffé, il ne sera pas nécessaire de calciner le filtre séparément du précipité.

VI. — MICRODOSAGE DU MANGANESE

Un poids voisin de 15 gr. de poudre de Champignon est incinéré au moufle chauffé au rouge sombre en suivant la technique décrite précédemment (121).

Les cendres sont reprises par 2 à 3 cc. d'acide chlorhydrique concentré et cet acide est éliminé par évaporation ; on verse alors 5 cc. d'acide sulfurique à 1/5 (122), on évapore, puis on calcine fortement au chalumeau pour détruire les particules de charbon qui n'auraient pas été brûlées. La masse est à nouveau reprise par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, puis par 5 cc. d'acide sulfurique à 1/5 ; le liquide est évaporé, puis le résidu calciné jusqu'à l'apparition de fumées blanches.

Les cendres sont traitées au bain-marie par 4 à 5 cc. d'acide nitrique à 1/2 ; la liqueur est filtrée et recueillie dans un tube Pyrex de centrifugeuse présentant un trait de jauge à 10 cc. ; le résidu insoluble et le filtre sont lavés à l'acide nitrique à 1/2 jusqu'à l'obtention de 10 cc. de liqueur ; on fait tomber dans le tube 0,5 gr. de bioxyde de plomb exempt de manganèse et on maintient le liquide à l'ébullition en chauffant avec précaution pour éviter les projections ; la suspension est centrifugée aussitôt pendant une à deux minutes.

On prépare ensuite par tâtonnement, à l'aide de so-

(121) Voir « obtention des cendres », p. 71.

(122) L'acide sulfurique transforme les sels minéraux en sulfates qui peu fusibles n'englobent pas les débris charbonneux et ne gênent pas leur combustion.

lutions titrées de sulfate de manganèse (123), un tube présentant la même coloration que le tube précédent. Renfermant tous deux la même quantité de métal, on déduit la teneur de la plante sèche et de ses cendres.

On fait bouillir une seconde fois les liquides des deux tubes pendant trois minutes, on les centrifuge et on vérifie ensuite si les intensités de coloration sont restées exactement les mêmes. Dans le cas où il y aurait une légère différence de teinte, on poursuivrait le dosage en comparant la coloration du liquide à examiner avec celles de solutions renfermant des quantités voisines de manganèse.

Pour les dosages en série, on peut, avec avantage, préparer à l'avance une gamme de tubes renfermant des quantités de métal espacées de 0,05 mg en 0,05 mg et comprises entre 0,05 mg et 0,40 mg. Ces tubes, qui sont conservés bouchés à l'aide de capuchons métalliques, sont maintenus à l'ébullition quelques minutes avant la comparaison et permettent de localiser, avec assez de précision, la quantité de manganèse à doser. On terminera ensuite le dosage à l'aide de tubes étalons préparés extemporanément.

Il nous a semblé que le dosage colorimétrique était effectué avec le minimum d'erreur quand la teneur en manganèse était inférieure à 0,40 mg. Lorsque la quantité de métal excédait ce poids, nous avons dilué avec de l'acide nitrique à 1/2, dans un rapport convenable, et nous avons opéré le dosage sur 10 cc. de cette liqueur.

(123) Les solutions de sulfate de manganèse SO_4Mn , 4 OH^2 utilisées contiennent par litre soit 0,4054 gr. (1 cc. renferme 0,1 mg de Mn) soit 0,04054 gr. (1 cc renferme 0,01 mg. de Mn).

CHAPITRE III

ETUDE ANALYTIQUE COMPAREE DES CHAMPIGNONS ET DES VEGETAUX SUPERIEURS

Pour rendre plus précis l'exposé de nos résultats, il nous semble tout d'abord préférable de situer exactement les Champignons dans le règne végétal ; on pourra ainsi, avec plus de facilité, réaliser les rapports ou les différences que nous signalerons entre les divers groupes au cours de notre travail.

Les végétaux se répartissent en quatre embranchements : les *Myxophytes*, les *Schizophytes*, les *Thallophytes* et les *Archidiophytes* ; les *Champignons* représentent, comme les *Algues* et les *Lichens*, l'un des trois sous-embranchements des *Thallophytes*. Les *Champignons* eux-mêmes se divisent en deux ordres : les *Phycomycètes* qui possèdent un mycélium végétatif non cloisonné et les *Eumycètes* à thalle cloisonné. Le premier de ces ordres ne renferme que des espèces de taille extrêmement réduite souvent parasites de végétaux ou d'animaux (*Mucor*, *Rhizopus*, *Plasmodium*, etc...), sur lesquelles des analyses chimiques sont pratiquement impossibles. Les *Eumycètes*, qui com-

prennent les *Ascomycètes* et les *Basidiomycètes*, renferment, à côté d'un certain nombre d'espèces microscopiques (*Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium* etc...), une très forte proportion de Champignons possédant un carpophore, appareil reproducteur aérien volumineux. Nos dosages ont porté sur les carpophores d'individus appartenant à des espèces diverses.

Les diverses cryptogames examinées ont été choisies, autant que possible, dans les différentes familles de l'ordre des *Eumycètes*. Nous avons étudié plusieurs genres d'une même famille afin de rechercher si leurs compositions reflétaient les affinités botaniques que ces végétaux avaient entr'eux. Dans un même ordre d'idée, des espèces appartenant à un même genre ont été analysées, et nous avons renouvelé cette étude pour des genres différents.

Cette étude a été entreprise également dans le but de comparer les Champignons aux autres végétaux et, en particulier, aux Phanérogames dont l'analyse chimique est assez bien connue, grâce à toute une série de travaux récents.

FAUROUX (1) ayant montré que les pouvoirs hémolytique et nucléolytique des Champignons étaient en relation avec la teneur en zinc, nous avons recherché s'il n'existait pas de rapport entre leur composition chimique et leur toxicité, et, pour cela, nous avons étudié des espèces diverses : comestibles ou vénéneuses.

Nous reproduisons dans le tableau p. 84 une classification des Champignons afin de situer les différentes espèces que nous avons étudiées.

(1) P. FAUROUX. — Thèse Pharmacie Montpellier 1932.

Les individus utilisés pour ces analyses proviennent de l'Hérault, de la Haute-Loire ou du canton de Genève (Suisse).

Nous exposerons nos résultats dans l'ordre suivant, en indiquant d'abord la teneur en cendres, puis en groupant nos recherches sur les éléments plastiques, anions ou cations, et sur le manganèse, seul élément catalytique étudié :

§ I. — Cendres.

§ II. — Soufre - Phosphore - Rapport S/P.

§ III. — Chlore.

§ IV. — Sodium - Potassium - Rapport K/Na.

§ V. — Calcium - Magnésium - Rapport Ca/Mg

§ VI. — Manganèse.

§ I. — CENDRES

Les cendres ont été très souvent déterminées dans les végétaux car, en dehors de l'intérêt que présente la connaissance du pourcentage fourni par la plante fraîche ou sèche, on rapporte généralement les quantités des éléments minéraux dosés dans le végétal au poids de ses cendres. La teneur en cendres a été souvent recherchée dans les Champignons ; nous avons mentionné ces travaux dans la partie historique de notre étude. On ne peut attribuer aux résultats de ces analyses qu'une valeur relative car l'incinération a pu être opérée à température trop élevée, transformant ainsi les carbonates en oxydes ; de plus, les individus ont pu, ainsi que l'indique la composition des cendres de quelques espèces, n'être pas parfaite-

ment privés des particules de terre qui adhèrent généralement aux cryptogames.

Nous avons réuni dans le tableau suivant les valeurs % obtenues dans la détermination des cendres de Champignons secs :

Noms des Champignons	Cendres pour cent de matières sèches
<i>Claviceps purpurea</i> Fr.	4,86
<i>Morchella esculenta</i> B.	7,16
<i>Clavaria aurea</i> Sch.	10,75
— <i>cinerea</i> B.	8,03
<i>Hydnum imbricatum</i> L.	6,87
— <i>repandum</i> L.	5,91
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	12,39
<i>Polyporus officinalis</i> Vill.	1,92
— <i>fomentarius</i> Fr.	1,71
<i>Boletus bovinus</i> Kr.	7,48
— <i>edulis</i> B.	6,90
— <i>granulatus</i> L.	5,92
<i>Amanita pantherina</i> D. C.	16,66
— <i>phalloides</i> Fr.	13,89
— <i>vaginata</i> B.	13,30
— <i>rubescens</i> Fr.	11,13
— <i>citrina</i> Sch.	11,05
— <i>verna</i> Fr.	10,84
— <i>ovoidea</i> B.	10,76
— <i>muscaria</i> L.	10,40
— <i>caesarea</i> Scop.	8,37
<i>Tricholoma personatum</i> Fr.	10,30
<i>Lactarius uvidus</i> Fr.	8,65
— <i>deliciosus</i> L.	7,09
<i>Russula nauseosa</i> Pers.	9,54
— <i>adusta</i> Pers.	8,76
— <i>delica</i> Fr.	8,22
— <i>Queletii</i> Fr.	7,79
— <i>emetica</i> Fr.	5,61
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	6,94
<i>Marasmius oreades</i> Bolt.	5,85
<i>Pholiota spectabilis</i> Fr.	10,36
<i>Paxillus panuoides</i> Fr.	3,80
<i>Psalliota campestris</i> L.	14,75
<i>Coprinus micaceus</i> B.	12,41
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers.	3,12

Lorsqu'on examine ce tableau, on remarque immédiatement que le poids de cendres, correspondant à 100 gr. de substance sèche, est très variable. N'atteignant que 1,71 % dans *Polyporus fomentarius*, ce pourcentage est susceptible de s'élever à 16,66 % dans *Amanita pantherina* et on peut dire approximativement que le taux de cendres varie d'une espèce à une autre dans la proportion de 1 à 10. C'est d'ailleurs entre ces limites extrêmes que viennent se placer les résultats donnés antérieurement par les auteurs.

Mais, si de telles variations paraissent, à première vue, assez curieuses, elles semblent logiques lorsqu'on essaye de les interpréter. Considérons pour cela les deux espèces précédemment indiquées qui possèdent une teneur en cendres limite : *Polyporus fomentarius*, qui pousse sur les branches des arbres, est, à l'état frais, un champignon d'aspect ligneux ; *Amanita pantherina*, par contre, pousse sur le sol et est très riche en eau. Si on récolte et abandonne ces deux champignons, le premier se dessèche tout en conservant sa forme primitive ; l'autre ne tarde pas à se décomposer et à pourrir. Comme l'eau se trouvant dans le végétal dissout des sels minéraux, il s'ensuit que plus le végétal sera riche en eau, plus il contiendra de matières minérales et plus il fournira à l'incinération un taux élevé de cendres.

La teneur en cendres est-elle caractéristique d'une espèce ? On sait, avec FISCHER (3), qu'un Champignon, aux différents stades de sa vie, renferme des quantités d'eau et de matières minérales variables, mais peu différentes. Si on a soin de déterminer les cendres, non sur un champignon, mais sur une poudre provenant de plusieurs individus d'âges différents,

(3) Voir, p. 37.

comme nous l'avons fait, les résultats correspondent à un échantillon moyen et sont soustraits à l'influence de l'âge. La nature du sol et les conditions atmosphériques sont certainement susceptibles d'influencer le taux des cendres, mais, à notre avis, dans de faibles proportions. Il suffit, d'ailleurs, de comparer le pourcentage de cendres de *Boletus edulis* desséché déterminé par LÖSECKE (6,22 %), SOKOLOFF (6,52 %), RUBNER (7,94 %), MARGEWICZ (pied : 6,67 % ; chapeau 8,10 %) et nous-mêmes (6,90 %) pour se rendre compte qu'il est sensiblement constant.

La teneur en cendres, assez fixe dans une espèce, peut-elle permettre de caractériser un genre ? Pour répondre à cette question, considérons les divers genres dans lesquels plusieurs espèces ont été examinées. Les espèces du genre *Amanita* fournissent toutes à l'incinération un résidu fort important dépassant presque toujours 10 % du végétal sec (sur 9 espèces, seul *A. caesarea* donne un taux plus faible : 8,37 %). Par contre, les espèces du genre *Polyporus* étudiées par nous : *Polyporus fomentarius* (1,71 %), *Polyporus officinalis* (1,92 %) ou par LÖSECKE : *Polyporus ovinus* (2,33 %) sont des végétaux extrêmement pauvres en matières minérales. Les *Russules* renferment une quantité s'échelonnant de 5,61 % à 9,54 %. Enfin, dans les diverses espèces du genre *Boletus*, le taux de cendres semble à peu près constant et oscille autour de 7 %. Pour mieux faire ressortir cette particularité, nous avons réuni dans un tableau les diverses analyses réalisées sur ce genre.

Les résultats sont encore trop peu nombreux pour permettre de formuler une conclusion ferme, mais il semble jusqu'ici, que le pourcentage de cendres soit compris entre des limites bien marquées pour les différentes espèces appartenant à un même genre.

		LOSECKE	SOKOLOFF	MARGEWICZ	
				pied	chapeau
<i>Boletus edulis</i>	6,90	6,22	6,52	6,67	8,10
— <i>granulatus</i> . . .	5,92	6,42			
— <i>bovinus</i>	7,48	6,0			
— <i>luteus</i>		6,39	7,56	7,46	10,47
— <i>elegans</i>		6,0			
— <i>scaber</i>			7,90	7,20	9,14
— <i>submentosus</i>				5,83	8,58

Enfin, signalons que le taux de cendres, fourni par les Champignons, varie dans des limites comparables à celles de la teneur des végétaux supérieurs.

§ II. — SOUFRE — PHOSPHORE — RAPPORT S/P

Le soufre et le phosphore ont été fréquemment dosés dans les végétaux, mais généralement après incinération de ceux-ci. Or, on connaît, à présent, les pertes que subissent ces deux métalloïdes et, en particulier, le soufre, au cours de cette opération.

BERTRAND et SILBERSTEIN (4) ont repris ces travaux et ont dosé, à l'aide de techniques précises, le soufre, puis le phosphore dans un assez grand nombre de plantes et ont déterminé pour chacune d'elles, le rapport S/P.

Dans leurs recherches, ces auteurs n'ont examiné qu'une seule espèce de Champignon : *Psalliota campestris* qui, de tous les végétaux étudiés, se présentait comme l'espèce la plus riche en phosphore, mais, par contre, comme l'une des plus pauvres en soufre de telle sorte que le rapport S/P venait se situer

(4) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 99.

parmi les valeurs les plus faibles. Il nous a donc paru intéressant de doser par des méthodes sûres ces deux anions afin de rechercher si les remarques, faites pour *Psalliota campestris*, pouvaient être étendues à toutes les autres espèces de Champignons.

Nous donnons, dans le tableau ci-dessous, les proportions de soufre contenues dans 100 parties de végétal sec. Cet élément ne peut pas être rapporté aux cendres de nature minérale, car on ne le rencontre dans la plante que presque exclusivement sous forme organique et que, d'autre part, quel que soit le mode d'obtention des cendres on ne l'y retrouve que partiellement. Le taux de phosphore sera, au contraire, déterminé pour les Champignons desséchés et pour leurs cendres.

Noms des champignons	S % matières sèches	P. pour cent de		S/P
		matières sèches	cendres	
<i>Claviceps purpurea</i> Fr.	0,17	0,88	18,20	0,20
<i>Morchella esculenta</i> B	0,24	1,11	15,49	0,22
<i>Clavaria aurea</i> Sch.	0,30	0,77	7,15	0,39
<i>Hydnum repandum</i> L.	0,16	0,43	7,33	0,38
<i>Polyporus fomentarius</i> Fr.	0,26	0,10	5,87	2,66
— <i>officinalis</i> Vill.	0,03	0,17	8,92	0,20
<i>Boletus edulis</i> B.	0,89	0,67	9,80	1,32
— <i>granulatus</i> L.	0,19	0,48	8,19	0,39
<i>Amanita muscaria</i> L.	0,23	1,11	10,73	0,20
— <i>ovoidea</i> B.	0,14	0,85	7,90	0,16
<i>Tricholoma personatum</i> Fr.	0,31	1,18	13,18	0,26
<i>Lactarius uvidus</i> Fr.	0,21	0,59	6,89	0,35
<i>Russula emetica</i> Fr.	1,93	0,37	6,62	5,22
— <i>adusta</i> Pers.	0,66	0,53	5,05	1,26
— <i>delica</i> Fr.	0,11	0,43	5,31	0,27
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	0,19	0,64	9,32	0,29
<i>Pholiota spectabilis</i> Fr.	0,22	0,51	4,92	0,43
<i>Paxillus panuoides</i> Fr.	0,06	0,30	8,03	0,20
<i>Psalliota campestris</i> L.	0,44	1,22	8,24	0,36
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers.	0,31	0,35	11,52	0,89

Le soufre se rencontre dans les Champignons des-
séchés en proportions extrêmement variables ; n'at-
teignant que 0,03 % dans *Polyporus officinalis*, la
teneur peut s'élever jusqu'à 1,93 % dans *Russula eme-
tica*. La richesse en cet élément varie donc dans le
rapport de 1 à 64.

Afin de comparer la teneur en soufre de ces cryp-
togames à celle des autres végétaux, nous rappro-
chons, dans un tableau, les résultats de nos analyses
de ceux de BERTRAND et SILBERSTEIN, en indiquant les
nombres de plantes et de champignons qui présen-
tent une teneur comprise entre des valeurs données.

S pour cent de matières sèches	BERTRAND et SILBERSTEIN (5) 33 plantes	20 Champignons
inférieur à 0,100	—	2
0,100 à 0,200	8	6
0,200 à 0,500	19	9
0,500 à 1	6	2
1 et plus	—	1

Nous voyons que le soufre varie beaucoup plus
dans les Champignons puisque les limites inférieures
et supérieures de BERTRAND et SILBERSTEIN sont dé-
passées. De plus, il semble que de tous les végétaux
examinés, les Champignons soient les espèces les
moins riches en cet élément.

Dans les plantes vertes on sait, avec MAZÉ, que le
soufre est indispensable à la formation de la chloro-
phyllé et DEUBER (6) a montré que la teneur des tis-

(5) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4),
t. 47, 1930, tableau, p. 100.

(6) C.-G. DEUBER. — *Bot. Gazette*, 1926, 82.

sus en pigment vert augmentait avec la proportion de ce corps. Dans les Champignons, dépourvus de chlorophylle, son rôle n'a pas encore été élucidé.

Le phosphore constitue de 0,10 % (*Polyporus foementarius*) à 1,22 % (*Psalliota campestris*) de la matière sèche ; il se rencontre dans les cendres dans une proportion variant de 4,92 % (*Pholiota spectabilis*) à 18,20 % (*Claviceps purpurea*), mais le taux reste généralement compris entre 5 et 10 %. Ces variations sont dans le rapport de 1 à 12 dans la plante sèche et seulement de 1 à 3,6 dans les cendres.

Si on considère le poids de phosphore par rapport à celui de la matière sèche, les Champignons semblent se comporter à peu près comme les autres végétaux. La seule espèce de ces Cryptogames : *Psalliota campestris*, que BERTRAND et SILBERSTEIN avaient examinée parmi tant d'autres plantes et qui se montrait comme étant la plus riche en phosphore, se trouve être également la mieux pourvue de toutes les espèces de Champignons dans lesquelles nous avons dosé cet élément. Les Champignons renfermeraient, dans leurs cendres, une proportion de phosphore plus élevée que les Phanérogames ; la teneur serait comparable à celle que l'on retrouve dans certains organes des plantes supérieures doués ou destinés à une vie cellulaire active : graines, tubercules, rhizomes et bulbes, tiges et racines jeunes, feuilles jeunes, etc... Or, on sait, en effet, que l'acide phosphorique est plus abondant dans les tissus où l'activité cellulaire est la plus intense, aussi n'est-il pas surprenant que les Champignons, végétaux à croissance extraordinairement rapide, présentent une teneur très élevée en ce métalloïde.

Quant au rapport S/P, compris chez les Phanéro-

games entre 0,1777 (*Triticum sativum*, son) et 1,7213 (*Allium sativum*, bulbe), nous avons constaté qu'il pouvait descendre jusqu'à 0,16 (*Amanita ovoidea*) et atteindre, par contre, 5,22 dans *Russula emetica*.

En examinant le tableau suivant, on remarque qu'une forte proportion de Champignons possède un

Rapport S/P	BERTRAND et SILBERSTEIN 33 plantes (7)	20 champignons
inférieur à 0,30	1	9
0,30 à 1	27	7
1 à 2	5	2
2 et plus	—	2

rapport S/P inférieur à 0,30, alors que la presque totalité des Phanérogames présentent une valeur comprise entre 0,30 et 1.

§ III. — CHLORE

Quelques auteurs seulement ont dosé le chlore dans les Champignons et les rares analyses ont été réalisées sur le végétal incinéré. A notre connaissance, aucun dosage précis n'a été réalisé jusqu'ici.

Le chlore, selon certains auteurs, ne serait pas un élément indispensable à la vie normale de la cellule ; il ne semblerait jouer, dans les végétaux, qu'un rôle secondaire et interviendrait surtout pour influencer les phénomènes d'absorption et de transpiration en augmentant la pression osmotique. Il exis-

(7) G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1930, t. 47, p. 99.

terait dans les plantes à chlorophylle sans être par contre nécessaire au développement des Champignons.

En fait, cet élément doit exister en proportions très variables ; décelé par BOUDIER et par FERRY dans quelques espèces du genre *Amanita* et dans *Boletus edulis*, le chlorure de potassium put être mis en évidence par BOURQUELOT dans un assez grand nombre d'espèces, mais ne put être retrouvé dans beaucoup de Champignons. Nous avons pensé que la méthode microscopique de BOURQUELOT était insuffisante et que le chlore devait se retrouver dans tous ces végétaux, mais peut-être en quantité assez réduite ; aussi nous nous sommes appliqué à rechercher cet anion dans des espèces où sa présence avait été contestée.

Le chlore ayant été trouvé de manière constante dans les amanites, nous avons examiné un grand nombre d'espèces du genre *Amanita* afin de rechercher s'il ne se caractérisait pas par une proportion anormale de chlorures.

Bien que le chlore ait été dosé dans le végétal desséché et non incinéré, nous avons calculé, outre la teneur en chlore de la matière sèche, celle des cendres pour mieux faire ressortir la place qu'occupe ce métalloïde parmi les substances minérales. Cependant, étant donné les pertes dues à l'incinération, cette proportion de chlore ainsi mentionnée n'est pas celle que l'on retrouve dans les cendres.

Noms des Champignons	Cl pour cent de	
	matières sèches	Cendres
<i>Amanita ovoidea</i> B.	2,07	19,34
— <i>phalloides</i> Fr.	2,61	18,77
— <i>verna</i> Fr.	1,92	17,71
— <i>rubescens</i> Fr.	1,62	14,55
— <i>muscaria</i> L.	1,29	12,40
— <i>pantherina</i> D. C.	1,77	10,63
— <i>vaginata</i> B.	1,01	7,58
— <i>caesarea</i> Scop.	0,43	5,14
<i>Boletus edulis</i> B.	0,58	8,40
— <i>granulatus</i> L.	0,33	5,57
<i>Russula emetica</i> Fr.	0,35	6,25
— <i>Queletii</i> Fr.	0,18	2,30
<i>Claviceps purpurea</i> Fr.	0,12	2,46
<i>Polyporus officinalis</i> Vill.	0,04	2,34
<i>Coprinus micaceus</i> B.	0,18	1,45
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	0,10	1,44
<i>Lactarius deliciosus</i> L.	0,12	1,38
<i>Tricholoma personatum</i> Fr.	0,10	0,97
<i>Morchella esculenta</i> B.	0,05	0,70
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers.	0,02	0,64

Lorsqu'on examine ce tableau, on est surpris par les très grandes différences existant entre les proportions de chlore renfermées dans 100 parties de substance sèche ; alors que *Geaster hygrometricus* n'en contient que 0,02 %, *Amanita phalloides* en possède 2,61 % et ces deux valeurs extrêmes sont entre elles dans le rapport de 1 à 130. Ramenée au poids de cendres, la quantité de chlore présente de très fortes variations, mais cependant moins marquées. Le pourcentage, qui oscille entre 0,64 dans *Geaster hygrometricus* et 19,34 dans *Amanita ovoidea*, varie encore dans la proportion de 1 à 32.

Ce qui est surtout à noter, c'est que les remarques, signalées depuis longtemps par les auteurs, se trouvent confirmées par l'analyse quantitative. Le taux de chlore s'est montré comme étant particulièrement

élevé dans le genre *Amanita* : Sur huit espèces, six constituent les plus riches de celles qui furent examinées, et les deux autres ne cèdent le pas qu'à quelques bolets et russules. Alors que le soufre et le phosphore et, comme nous le verrons dans les chapitres suivants, le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le manganèse, ne semblent pas, par leurs proportions, caractériser un genre, le chlore permet de séparer, d'une manière extrêmement nette, les Amanites des autres Champignons. Remarquons, en effet, que cet anion, exprimé sous forme de chlorure de potassium, constitue plus de 40 % des cendres de *Amanita ovoidea*.

Le genre *Boletus* se classerait immédiatement après, bien que la teneur en chlore soit environ deux fois plus faible que celle des Amanites. Enfin, la plupart des autres espèces semblent beaucoup moins riches et certaines même sont très pauvres : *Morchella esculenta*, *Geaster hygrometricus*.

Des espèces des genres *Lactarius* et *Russula*, genres dans lesquels BOURQUELOT n'avait pu déceler le chlorure de potassium, contiennent cet élément et, parfois en quantités assez importantes (*Russula emetica* : 6,25 % cendres).

Si on compare les chiffres que nous avons obtenus à ceux provenant d'anciennes analyses, on constate que nos valeurs sont beaucoup plus fortes. HEINISCH et ZELLNER n'avaient trouvé dans *Amanita muscaria* que de 6,41 à 6,88 % de chlore et, selon SOKOLOFF, *Boletus edulis* n'en renfermerait que 3,55 %.

Les analyses faites sur d'autres végétaux ont montré que les Algues marines étaient très riches en chlore (*Halydria siliquosa* en contient 37,24 % dans ses cendres) ; dans les Phanérogames la teneur varie

selon les familles. Enfin, il est à signaler que, si beaucoup de Champignons se classent parmi les plantes les plus pauvres, un bon nombre d'Amanites doivent figurer parmi les végétaux terrestres les mieux pourvus en cet anion.

§ IV. — SODIUM — POTASSIUM — RAPPORT K/Na

Le sodium, recherché depuis longtemps dans les plantes, n'a pas toujours été rencontré d'une manière constante, si bien que les biologistes et les phytophysiologistes niaient qu'il eut un intérêt quelconque pour le végétal. PÉLIGOT (8) n'admettait pas sa présence dans les feuilles de tabac, de mûrier et de haricot ; WOLFF (9) pensait que le fruit du Marronnier d'Inde en était dépourvu. Ces graves erreurs provenaient de ce que les auteurs ne possédaient pas de techniques précises, ainsi le sodium était fréquemment dosé par reste.

BERTRAND et PERIETZÉANU ont reconnu la nécessité de déterminer, au moyen de techniques propres à fournir des résultats exacts, les proportions de sodium (10) et de potassium (11) contenues dans les végétaux ; ils ont établi pour un grand nombre de plantes : Phanérogames terrestres ou marines et Algues, le rapport K/Na (12). BERTRAND et Mme ROSENBLATT ont poursuivi cette étude, montrant ainsi la présence constante du sodium dans les végétaux terrestres et déterminant pour beaucoup d'entre eux la va-

(8) PÉLIGOT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1867, t. 65, p. 729.

(9) WOLFF. — Cité par PÉLIGOT.

(10) G. BERTRAND et J. PERIETZÉANU. — *C. R. Ac. Sc.*, 1927, t. 184, p. 645 et *Bull. Soc. Chim.* (4) 1927, t. 41, p. 709.

(11) G. BERTRAND et J. PERIETZÉANU. — *C. R. Ac. Sc.*, 1927, t. 184, p. 1616 et *Bull. Soc. Chim.* (4) 1927, t. 41, p. 1378.

(12) G. BERTRAND et J. PERIETZÉANU. — Loc. cit. J. PERIETZÉANU. Thèse Sciences Paris 1926.

leur du rapport K/Na (13) ; dans les algues marines, il n'est inférieur à l'unité que pour le tiers des espèces étudiées et est souvent comparable à celui des plantes terrestres (14). Enfin, plus récemment, ces auteurs ont prouvé que le rapport K/Na des espèces, qui croissent en eau saumâtre ou sur le bord de la mer, ne différait pas de celui des plantes purement terrestres (15) ; d'autre part, il varierait pour une même espèce avec l'époque de la végétation (*Salsola Soda* en fleurs possède un rapport K/Na = 5,45 et en fruits K/Na = 1,40). Le sodium et le potassium sont capables de se remplacer mutuellement et lorsque l'un de ces deux métaux vient à diminuer, une augmentation de l'autre rétablit la pression osmotique.

Cependant, les résultats obtenus par BERTRAND et ses collaborateurs sont faiblement erronés, ainsi que le fait remarquer KAHANE (16), le sodium étant dosé par précipitation à l'état d'acétate triple, selon la technique de BLANCHETIÈRE.

Mais, si les espèces, dans lesquelles le sodium, le potassium et leur rapport ont été déterminés avec précision, sont fort nombreuses, elles sont uniquement réparties dans les Phanérogames et dans les Algues. Aucune espèce de Champignons n'ayant été étudiée, nous avons donc recherché, dans une vingtaine de ces cryptogames, les valeurs du sodium, du potassium et du rapport K/Na.

(13) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1928, t. 186, p. 200 et *Bull. Soc. Chim.* (4) 1928, t. 43, p. 368.

(14) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1928, t. 187, p. 267 et *Bull. Soc. Chim.* (4) 1928, t. 43, p. 1133.

(15) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *Bull. Soc. Chim.* (4), 1930, t. 47, p. 639.

(16) E. KAHANE. — *Bull. Soc. Chim.* (4) 1930, t. 47, p. 382.

Noms des Champignons	Na		K		Rapport K/Na
	matières sèches	cendres	matières sèches	cendres	
<i>Claviceps purpurea</i> Fr.	0,27	5,58	1,52	31,38	5,60
<i>Morchella esculenta</i> B.	0,79	10,99	2,34	32,74	2,96
<i>Clavaria aurea</i> Sch.	1,00	9,37	4,85	45,11	4,79
<i>Hydnum repandum</i> L.	0,66	11,28	3,09	52,27	4,62
<i>Polyporus fomentarius</i> Fr. . .	0,04	2,53	0,29	17,13	6,76
— <i>officinalis</i> Vill.	0,06	3,40	0,81	42,13	12,38
<i>Boletus edulis</i> B.	0,41	6,07	2,81	40,83	6,71
— <i>granulatus</i> L.	0,58	9,88	2,75	46,68	4,71
<i>Amanita muscaria</i> L.	0,94	9,07	4,93	47,41	5,21
— <i>ovoidea</i> B.	0,68	6,31	4,16	38,73	6,13
<i>Tricholoma personatum</i> Fr. . .	0,80	7,94	4,83	43,73	5,49
<i>Lactarius uvidus</i> Fr.	0,57	6,62	3,59	41,38	6,24
<i>Russula emetica</i> Fr.	0,63	11,35	2,15	38,47	3,38
— <i>adusta</i> Pers.	0,77	7,61	4,01	38,21	5,01
— <i>delica</i> Fr.	0,68	8,35	4,07	49,54	5,92
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	0,61	8,88	3,13	45,16	5,06
<i>Pholiota spectabilis</i> Fr.	0,55	5,33	3,29	31,80	5,94
<i>Paxillus panuoides</i> Fr.	0,18	4,78	1,21	31,99	6,67
<i>Psalliota campestris</i> L.	0,56	3,78	4,34	29,25	7,73
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers. . .	0,02	0,79	0,25	8,22	10,23

On peut constater tout d'abord que le sodium et le potassium existent dans toutes les espèces étudiées et, celles-ci appartenant à des familles botaniques différentes, on peut admettre que ces éléments se rencontrent dans tous les Champignons. Le présence constante du sodium et du potassium pourra donc être étendue à tous les Thallophytes.

Le sodium se trouve dans le végétal sec dans une proportion variant de 0,02 % (*Geaster hygrometricus*) à 1,00 % (*Clavaria aurea*), c'est-à-dire dans le rapport 1 à 50, mais pour 17 espèces sur 20, le pourcentage demeure compris entre 0,18 et 1,00 et n'oscille que dans le rapport 1 à 5,5. Le sodium est donc un élément se trouvant en quantités peu variables dans les Champignons desséchés.

Dans les cendres, les valeurs trouvées s'échelonnent de 0,79 % (*Geaster hygrometricus*) à 11,35 % (*Russula emetica*) et les limites sont dans le rapport de 1 à 14,3 ; mais, si on excepte *Geaster hygrometricus*, les variations sont très réduites et n'ont plus lieu que dans la proportion de 1 à 4,5.

BERTRAND et PERIETZÉANU examinant des plantes ou parties de plantes de familles différentes, ont trouvé que le sodium variait dans le végétal sec de 0,0017 % (*Æsculus Hippocastanum*) à 0,6729 % (*Málva rotundifolia*, partie aérienne) pour atteindre 3,5070 % dans une plante marine (*Zostera marina*). Rapprochons dans le tableau suivant nos résultats de ceux de ces auteurs :

Na pour cent de matières sèches	BERTRAND et PERIETZEAU 35 plantes	20 champignons
inférieur à 0,010	15	—
0,010 à 0,100	10	3
0,100 à 0,500	5	3
0,500 et plus	5	14

Il est donc établi que les Champignons sont, parmi les végétaux desséchés, les plus riches en sodium.

Comparons le taux en sodium de leurs cendres, à celui des végétaux supérieurs précédents :

Na pour cent de cendres	BERTRAND et PERIETZEAU 35 plantes	20 Champignons
inférieur à 0,100	15	—
0,100 à 1	10	1
1 à 3	6	1
3 et plus	4	18

Rapportée au poids de cendres, la teneur en sodium des Champignons est donc beaucoup plus élevée que pour la plupart des autres végétaux. Des plantes poussant en terrains salés, telles que *Aster Tripolium* (17) dont les cendres renferment 11,61 % de sodium, ne sont pas plus riches en cet élément que certains Champignons (*Russula emetica* : 11,35 %) qui croissent sur des substratum quelconques. Enfin, les Algues marines en renferment davantage, mais il ne faut pas oublier qu'elles vivent,

(17) *Aster Tripolium* est l'espèce la plus riche en sodium des quelques plantes halophiles examinées par BERTRAND et Mme ROSENBLATT.

entièrement plongées, dans un milieu très riche en chlorure de sodium.

De ces résultats, on peut tirer une conclusion intéressante :

Les Champignons sont les végétaux terrestres les plus riches en sodium, que la proportion de cet élément soit rapportée au végétal desséché ou ramenée à ses cendres.

Le potassium se rencontre dans les Champignons dans une proportion variant de 0,25 % (*Geaster hygrometricus*) à 4,93 % (*Amanita muscaria*) du végétal sec, soit dans le rapport de 1 à 19. Dans les cendres, le taux est compris entre 8,22 % (*Geaster hygrometricus*) et 52,37 % (*Hydnum repandum*) ; ces valeurs limites sont dans le rapport de 1 à 6,3. Mais, si l'on excepte *Geaster hygrometricus* (8,22 %) de composition un peu spéciale et *Polyporus fomentarius* (17,13 %), le pourcentage reste compris entre 29,35 % (*Psalliota campestris*) et 52,17 % c'est-à-dire dans la proportion de 1 à 1,7. Le potassium se présente donc comme un élément assez peu variable.

BERTRAND et PERIETZEANU, déterminant le potassium dans 35 végétaux, ont trouvé, dans les plantes sèches, des chiffres compris entre 0,794 % (*Zea Mays*, graines) et 6,805 % (*Scorzonera hisp.*, partie aérienne) et, dans les cendres, des valeurs variant entre 7,866 % (*Evonymus japonic.*, feuilles) et 41,760 % (*Poa pratensis*, partie aérienne). En comparant les résultats obtenus par ces auteurs aux nôtres, nous voyons que les Champignons viennent aux premiers rangs parmi les végétaux les plus riches en potassium.

Le potassium et le phosphore, qui se trouve sous forme de phosphates, représentent les deux éléments essentiels des cendres : ainsi 87,1 % des cendres de

Claviceps purpurea sont constitués par le potassium (31,38 %) et par le phosphore évalué sous forme d'ion phosphorique (55,7 %). Depuis longtemps, on avait remarqué ces proportions élevées.

Les Champignons, très riches en sodium et en potassium, seront donc fortement chargés en ions alcalins. Ces deux éléments ne semblent pas devoir se substituer l'un à l'autre mais, au contraire, augmenter ou diminuer simultanément et leurs variations paraissent contrebalancées par celles des métaux bivalents : calcium et magnésium. En effet, si on examine le rapport K/Na, on constate que sa valeur minima 2,96 (*Morchella esculenta*) et sa limite maxima 12,38 (*Polyporus officinalis*) ne sont entre elles que dans la proportion de 1 à 4,1.

Lorsqu'on se reporte maintenant aux résultats donnés par BERTRAND et PÉRIETZEAU pour 35 plantes, on peut établir le tableau comparatif suivant :

Rapport K/Na	BERTRAND et PÉRIETZEAU 35 plantes	20 champignons
inférieur à 2	2 (plantes mar.)	—
2 à 15	7	20
15 à 100	8	—
100 et plus	18	—

BERTRAND et PÉRIETZEAU ont toujours trouvé un rapport K/Na supérieur à l'unité, variant pour les plantes terrestres de 3,06 (*Malva rotundifolia*, partie aérienne) à 1044,8 (*Sambucus nigra*, feuilles). Les plantes marines et les Algues possèdent un rapport faible pour *Zostera marina* (1,15) et *Pelvetia caniculata* (1,46), plus fort pour *Laminaria saccharina* (6,37)

et *Ulva lactuca* (10,45) et assez élevé pour *Rodymenia palmata* (77,80). Selon BERTRAND et Mme ROSENBLATT, certaines Algues et quelques Phanérogames des terrains salés (*Inula crithmoïdes* : 0,45) fournissent un rapport inférieur à l'unité. En résumé, un assez grand nombre de végétaux marins ou halophiles et quelques rares espèces terrestres présenteraient un rapport plus faible que celui déterminé dans les Champignons.

Deux faits semblent donc se dégager de cette étude :

1° *Le rapport K/Na ne varie dans les Champignons que dans d'étroites limites.*

2° *Les Champignons sont les végétaux terrestres pour lesquels le rapport K/Na est le plus faible.*

Nous avons essayé d'interpréter ces deux résultats en nous basant sur les travaux d'ANDRÉ et DEMOUSSY.

On sait, depuis longtemps, que si on cultive de jeunes plantes dans une solution renfermant des quantités équivalentes de nitrates de potassium et de sodium, ces végétaux ne prélèvent les premiers jours que du potassium et le sodium n'est absorbé que plus tard quand la solution s'appauvrit en l'autre métal. Différents auteurs avaient imaginé, pour expliquer ce phénomène remarquable pour deux éléments d'autre part si voisins par leurs propriétés chimiques et physiques, que le potassium formait dans les végétaux des combinaisons plus stables ou moins solubles que celles fournies par le sodium ; cependant, ces combinaisons ont été vainement recherchées. ANDRÉ et DEMOUSSY ont pensé que cette sélection ne pouvait être due qu'à la différence existant entre les mobilités des ions potassium et sodium, qui sont

entre elles comme 100 à 84. Leur hypothèse repose sur l'expérience suivante, due à GRAHAM, permettant de séparer ces deux métaux alcalins grâce à la mobilité différente de leurs ions : une solution renfermant un mélange de sels de potassium et de sodium est surmontée d'une colonne d'eau pure ; au bout de quelque temps, la couche la plus éloignée de la solution initiale renferme, par rapport au sodium, une quantité plus élevée de potassium que les couches intermédiaires. Le rapport K/Na augmente lorsqu'on s'éloigne de la solution primitive.

ANDRÉ et DEMOUSSY ont analysé des couches concentriques de la racine de betterave fourragère (18) et ont montré que le rapport K/Na croît de 8,7 à 10,0 puis à 13,9 lorsqu'on examine successivement les zones périphérique, moyenne et centrale, c'est-à-dire lorsqu'on s'éloigne du milieu extérieur qui correspond à la solution saline initiale.

Ces auteurs ont essayé également de justifier leur hypothèse en déterminant le rapport K/Na sur diverses parties du *Tamarix gallica* (19), dont le vieux bois constituerait le réservoir renfermant le mélange de sels, tandis que les pousses et les feuilles formeraient la partie supérieure du vase de GRAHAM vers laquelle s'effectuerait la diffusion. Ils constatèrent qu'en hiver, au moment où la végétation est au repos, le bois de l'année précédente et le jeune bois présentaient des rapports voisins : 2,5 et 2,2, mais que, par contre, au mois de juillet où la végétation est active, le vieux bois possédait un rapport égal à 3,6, alors que celui

(18) G. ANDRÉ et E. DEMOUSSY. — C. R. Ac. Sc., 1925, t. 180, p. 1052 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, t. 7, p. 806.

(19) G. ANDRÉ et E. DEMOUSSY. — C. R. Ac. Sc., 1927, t. 184, p. 1501 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, t. 8, p. 861.

du bois jeune atteignait 18,0. Aussi, conclurent-ils que « les parties du végétal recevront proportionnellement d'autant plus de potassium que de sodium, qu'elles seront plus éloignées de la solution complexe initiale. » Le rapport K/Na sera donc variable pour une même plante avec la saison, l'organe considéré et son âge.

Si on examine maintenant le Champignon, végétal massif de dimensions réduites et de structure spongieuse, on conçoit qu'en aucune de ses parties on puisse déterminer un rapport K/Na quelque peu élevé ; en effet, les ions potassium et sodium, puisés dans le sol par le mycélium, ne peuvent parvenir à se séparer nettement en raison de la faible distance qu'ils ont à parcourir. Un Champignon peut donc être considéré comme un vase de GRAHAM de large section et de faible hauteur renfermant à sa base les sels apportés. De plus, dans ces plantes qui atteignent en quelques jours leur forme définitive grâce à un développement particulièrement rapide, le mycélium très actif apporte constamment de nouvelles quantités de solutions salines qui sont entraînées dans les diverses parties du carpophore.

Il n'est donc pas surprenant que les Champignons soient, de tous les végétaux terrestres, ceux qui présentent le rapport le plus faible, puisque dans ces végétaux la différence de mobilité des ions ne peut jouer le rôle qu'on lui attribue dans les autres plantes. On admettra facilement aussi que ces végétaux, si semblables entre eux par leur port, leur taille et leurs caractères anatomiques, ne peuvent guère différer par la valeur du rapport K/Na.

§ V. - CALCIUM - MAGNESIUM - RAPPORT Ca/Mg

Le calcium et le magnésium ont été fréquemment examinés dans les végétaux en raison de la facilité de leur dosage et de leurs proportions assez élevées ; c'est également pour cela et aussi parce que ces métaux se retrouvent intégralement dans les cendres du végétal que les nombreuses analyses, même les plus anciennes, sont généralement assez exactes. Cependant, dans les Champignons, peu de dosages de calcium et de magnésium ont été effectués.

La nécessité du calcium, absolue pour les végétaux supérieurs, a été très discutée pour les plantes inférieures et, en particulier, pour les Champignons. Les physiologistes, recherchant la valeur de cet élément, ont appliqué la méthode synthétique, faisant croître la cryptogame sur un milieu de composition chimique bien établie ; les résultats de leurs travaux sont fort divergents.

RAULIN (20) obtient une belle végétation en cultivant *Aspergillus niger* dans un milieu privé de calcium ; les recherches de NÆGELI (21), de MOLISH (22) et de BENECKE (23) confirment les résultats de RAULIN. LÆW (24) constate que les Champignons inférieurs (levures et moisissures) se développent parfaitement dans un milieu renfermant de l'acide oxalique, lequel insolubilise toute trace de calcium. Selon

(20) RAULIN. — Thèse Sciences, Paris 1870.

(21) NÆGELI. — *Bot. Mittlg.*, 1881, t. 3, p. 458.

(22) MOLISH. — *Bot. Centralbl.*, 1894, t. 60, p. 167; *Sitzb. Akad. Wiss. Wien*, t. 103, p. 554.

(23) BENECKE. — *Bot. Centralbl.*, 1894, t. 60, p. 195; *Ber. d. bot. Gesellsch.*, t. 12, p. 105; *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. 28, p. 487; *Bot. Zeitg.*, 1896, t. 54, p. 97.

(24) LÆW. — *Flora*, 1892, t. 50, p. 368; *Bot. Centralbl.*, 1898, t. 74, p. 257.

Mlle ROBERT (25) cet élément serait indifférent ou inutile vis-à-vis de l'*Aspergillus niger*.

Mais, d'autre part, DUCLAUX (26) remarque que *Penicillium glaucum* pousse mieux en présence de petites quantités de calcium ; BOKORNY (27), BUROMSKY (28) sont favorables à cette hypothèse ; WEIR (29), effectuant des recherches analogues sur diverses espèces du genre *Coprinus*, constate que l'oxalate de potassium est toxique pour ces Champignons et que le calcium leur est, par suite, nécessaire. En résumé, les auteurs admettent généralement ce métal comme inutile aux espèces inférieures, mais les Champignons supérieurs, tout comme les Phanérogames, l'exigeraient pour se développer.

Quel serait le rôle du calcium dans les Champignons supérieurs ? Peut-être celui qu'il joue chez les Phanérogames. Selon LÆW, il entrerait dans des combinaisons organiques dites « calcium-protéïdes » essentielles pour la vie de la plante. BERTRAND et MALLÈVRE (30) montrent son action catalytique dans la formation des composés pectiques ; cependant, la pectase, toujours rencontrée dans les plantes vertes, ne pût être retrouvée dans les Champignons tandis que le pectate de calcium ne pouvait être mis en évidence. Le calcium serait donc nécessaire à la construction de la membrane en tant qu'élément plasti-

(25) Mlle T. ROBERT. — Thèse Sciences, Paris, 1915.

(26) DUCLAUX. — Tr. de microb., 1898, t. 2, p. 4.

(27) BOKORNY. — *Centr. f. Bakt*, II, 1912, t. 35, p. 118.

(28) BUROMSKY. — *Centr. f. Bakt*, II, 1912, t. 36, p. 54.

(29) WEIR. — *Flora*, 1911, t. 103, p. 87.

(30) G. BERTRAND et MALLÈVRE. — *C. R. Ac. Sc.*, 1894, t. 119, p. 1012 et t. 120, p. 110; *Bull. Soc. Chim.* (3) 1895, t. 13, p. 4, 77, 252.

que et catalytique dans les végétaux chlorophylliens, mais non dans les Champignons.

Mais si le calcium se présente comme un élément tantôt indispensable et tantôt inutile, le magnésium s'est révélé, au contraire, ainsi que le démontre CANALS (31), comme absolument nécessaire aussi bien aux végétaux supérieurs qu'aux plantes inférieures.

Ce métal possède un rôle plastique : il se retrouve toujours dans les cendres végétales en quantités appréciables. Il existerait non seulement sous forme de phosphates, en particulier de phosphate bimagnésien, mais également sous forme de composés organiques telle la phytine et entrerait dans la constitution des molécules protidiques complexes qui composent le noyau ; dans les plantes vertes, il fait partie de la chlorophylle.

Lorsque le magnésium se trouve en solution très diluée, il favorise d'autant plus la végétation que la concentration est plus forte, mais lorsqu'elle dépasse une certaine valeur dite seuil de toxicité, l'action bienfaisante du métal se trouve compensée par sa toxicité. Mlle ROBERT a remarqué que cette concentration limite pouvait être largement augmentée lorsqu'on ajoute au milieu nutritif de petites quantités de calcium ; elle explique ce phénomène en attribuant à ce métal un rôle antitoxique, neutralisant plus ou moins celui du magnésium. Le phénomène inverse a pu être observé : le calcium possède, à une certaine concentration, un pouvoir nocif qui est diminué par la présence du magnésium. Calcium et magnésium présentent donc entr'eux une antitoxité réciproque.

(31) E. CANALS. — *Bull. Soc. Chim. biol.* 1928, t. 10, p. 1260 et 1929, t. 11, p. 14.

LÆW (32), qui avait constaté ces rapports, avait pensé que le substratum devait fournir ces deux éléments en proportions bien déterminées et appela facteur de chaux la relation OCa/OMg . De très nombreuses études ont été entreprises pour déterminer cette valeur dans des plantes, se développant sur un milieu artificiel ou naturel ; CANALS (33) et Mlle DAUCAN (34) ont calculé ce rapport pour quelques plantes de la région méditerranéenne. Dans les Champignons supérieurs, ce facteur de chaux n'ayant jamais été examiné, nous l'avons établi pour une vingtaine d'espèces.

Voici, dans le tableau page 111, les résultats pour la teneur des plantes sèches et de leurs cendres en calcium et en magnésium, ainsi que les valeurs calculées du rapport Ca/Mg .

Le calcium, comme l'indique ce tableau, est toujours présent dans les Champignons examinés, mais la teneur en ce métal est particulièrement variable. Cet élément représente de 0,01 (*Tricholoma personatum*) à 1,35 (*Psalliota campestris*) pour cent parties de végétal sec ; les limites extrêmes sont entr'elles dans le rapport de 1 à 135. Le pourcentage, dans les cendres, beaucoup plus inconstant encore, varie de 0,10 (*Tricholoma personatum*) à 28,74 (*Geaster hygrometricus*), soit dans la proportion de 1 à 287. Si ce cation n'existe qu'à l'état de traces dans beaucoup d'espèces, on peut remarquer qu'il constitue parfois l'élément quantitativement le plus important des cendres.

(32) LÆW. — *Flora*, 1892, t. 50, p. 368.

(33) E. CANALS. — Thèse Sciences, Paris 1920, p. 73.

(34) Mlle G. DAUCAN. — Thèse Pharmacie Montpellier, 1928, p. 54.

Noms des Champignons	Ca		Mg		Rapport Ca/Mg
	matières sèches	pour cent de cendres	matières sèches	pour cent de cendres	
<i>Claviceps purpurea</i> Fr. . . .	0,05	0,92	0,18	3,86	0,23
<i>Morchella esculenta</i> B. . . .	0,03	0,41	0,08	1,07	0,38
<i>Clavaria aurea</i> Sch.	0,02	0,16	0,16	1,50	0,11
<i>Hydnium repandum</i> L. . . .	0,07	1,25	0,11	1,87	0,63
<i>Polyporus fomentarius</i> Fr. . .	0,34	20,14	0,10	6,04	3,33
— <i>officinalis</i> Vill.	0,03	1,52	0,16	8,74	0,17
<i>Boletus edulis</i> B.	0,03	0,48	0,07	0,44	0,44
— <i>granulatus</i> L.	0,22	3,71	0,13	2,19	1,69
<i>Amanita muscaria</i> L.	0,02	0,21	0,16	1,57	0,14
— <i>ovioidea</i> B.	1,01	9,38	0,12	1,16	8,09
<i>Tricholoma personatum</i> Fr. . .	0,01	0,10	0,15	1,62	0,06
<i>Lactarius uvidus</i> Fr.	0,02	0,18	0,11	1,30	0,15
<i>Russula emetica</i> Fr.	0,06	1,14	0,06	1,15	0,98
— <i>adusta</i> Pers.	0,07	0,65	0,16	1,53	0,42
— <i>delica</i> Fr.	0,04	0,58	0,10	1,25	0,46
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	0,04	0,65	0,14	2,00	0,32
<i>Pholiota spectabilis</i> Fr.	0,66	6,45	0,11	1,13	5,68
<i>Parillus panuoides</i> Fr.	0,40	10,60	0,06	1,44	7,36
<i>Psalliota campestris</i> L.	1,35	9,11	0,10	0,71	17,38
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers. . .	0,89	28,74	0,12	3,91	7,35

Devant des résultats aussi variables, on peut se demander si le rôle du calcium est le même dans toutes les espèces appartenant aux Champignons supérieurs. Dans certaines d'entr'elles particulièrement riches comme *Geaster hygrometricus* (28,74 %), *Polyporus fomentarius* (20,14 %), *Paxillus panuoides* (10,60 %), *Amanita ovoidea* (9,38 %), *Psalliota campestris* (9,11 %), ce métal ne jouerait-il pas un rôle plastique ? Mais, peut-on lui attribuer ce rôle dans des espèces tout aussi élevées dans la règne végétal tel *Tricholoma personatum* (0,10 %) qui ne renferme qu'une quantité de calcium à peine supérieure au double du poids de manganèse contenu ? Le calcium est-il nécessaire aux Champignons supérieurs, ainsi que le prétend WEIR, ou se rencontre-t-il d'une manière accidentelle en quantités variables suivant la richesse en chaux du milieu sur lequel ils se développent ? Il faut remarquer que, si le calcium existe en proportions variables, il a toujours été retrouvé dans toutes les espèces examinées ; peut-être possède-t-il une action catalytique jusqu'ici inconnue.

Lorsqu'on examine la teneur en calcium des végétaux supérieurs, on est surpris de ne trouver que des chiffres relativement élevés. Alors que le taux des cendres de tiges et de feuilles appartenant à des plantes méditerranéennes, étudiées par Mlle DAUCAN, est toujours largement supérieur à 2 %, 13 des 20 espèces, examinées par nous, renferment, dans leurs cendres, une proportion de calcium inférieure à cette valeur. La majorité des Champignons représenterait donc dans le règne végétal un des groupes les moins riches en calcium.

Le magnésium, contrairement au calcium, se retrouve dans ces cryptogames en proportions beaucoup

plus stables ; dans la plante desséchée la teneur n'oscille qu'entre 0,06 % (*Russula emetica*) et 0,18 % (*Claviceps purpurea*), soit dans le rapport de 1 à 3 ; les cendres en renferment de 0,71 % (*Psalliota campestris*) à 8,74 % (*Polyporus officinalis*) et ces valeurs extrêmes sont entr'elles comme 1 à 12. Ces chiffres sont comparables à ceux déjà fournis par les analyses de végétaux à chlorophylle et sont, en moyenne, légèrement plus faibles.

L'étude comparative du calcium et du magnésium fait ressortir que ces deux éléments se comportent très différemment vis-à-vis des Champignons : le premier est absorbé en quantité extrêmement variable, le second, par contre, se retrouve toujours à peu près dans une même proportion.

Ces deux métaux ne semblent pas liés l'un à l'autre, des variations énormes de calcium sont absolument sans influence sur le taux de magnésium ; mais, comme nous l'avons fait remarquer précédemment, leur proportion plus ou moins grande est contrebalancée par une teneur en métaux alcalins tendant à rétablir la pression osmotique. Le magnésium étant relativement fixe, le rapport Ca/Mg oscillera, avec le calcium, dans de larges limites. Réduit parfois à 0,06 dans *Tricholoma personatum* très pauvre en calcium, il pourra atteindre 17,38 pour *Psalliota campestris* ; ces variations considérables s'effectuent dans le rapport de 1 à 290.

Pour comparer les valeurs du facteur de chaux trouvées dans les Champignons à celles déterminées dans les autres plantes, nous avons rapproché nos résultats de ceux de CANALS (35).

(35) E. CANALS. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, t. 10, page 1260.

Rapport Ca/Mg	CANALS 54 parties de plantes (36)	20 Champignons
inférieur à 0,8	—	12
0,8 à 10	42	7
10 à 20	9	1
20 et plus	3	—

Dans la plupart des Champignons ce rapport est inférieur à 0,8, alors qu'aucun autre végétal ne présente une valeur aussi faible. Un seul Champignon possède un facteur de chaux supérieur à 10, tandis que beaucoup de plantes fournissent des chiffres plus élevés. Les Champignons ont donc, en moyenne, un rapport de Læw plus faible que les végétaux supérieurs.

§ VI. — MANGANESE

Le manganèse, bien qu'assez peu abondant (il occupe la treizième place dans le classement de CLARKE (37), est cependant très répandu dans la nature. Toujours présent dans le sol, on le retrouve dans les eaux de mer (38), les eaux de source dont certaines en sont largement pourvues, telle la source de *Cunocuma* (0,10 0/00 de CO^3Mn) (39) et il put même être décelé dans les eaux d'alimentation (40).

Existant dans tous les milieux naturels, ce métal

(36) Feuilles ou tiges provenant de Phanerogames ou de Fougères.

(37) W. CLARKE. — *Chem. News*, 1894, 61, 31.

(38) L. DIEULAFAIT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1883, t. 96, p. 718.

(39) M. BOUSSINGAULT. — *Ann. Chim. Phys.*, 1882, (5), t. 27, p. 289.

(40) F. JADIN et A. ASTRUC. — *C. R. Ac. Sc.*, 1913, t. 157, p. 338.

devait se retrouver dans les végétaux. SCHEELE (41), en 1785, le découvrit dans le cumin et diverses autres plantes ; depuis, bien des phytobiologistes tels HERAPATH (42), SALM HORTSMAR (43), LIEBIG (44), MALAGUTI et DUROCHER (45), MARCELET (46), PICHARD (47), etc., ont produit de nombreux travaux sur la recherche du manganèse dans le règne végétal.

Cependant, seuls demeurent intéressants aujourd'hui, les résultats trouvés depuis la publication de la précieuse technique de BERTRAND. A partir de cette date, une série de dosages exacts sont effectués par JADIN et ASTRUC (48), ZELLNER (49), BERTRAND et Mme ROSENBLATT (50) et par GARNIER (51). Ces analyses, quoique en grand nombre, ne concernent que fort rarement les Champignons, aussi nous avons tenu à montrer que ces plantes n'étaient pas privées de cet élément et que la présence constante du manganèse, généralisée à toutes les Phanérogames, pouvait l'être aussi aux Champignons.

(41) SCHEELE. — *Mémoires de Chymie* (1), p. 39-115, Dijon, 1785.

(42) HERAPATH, cité par A. OLARU. — Thèse Sciences Paris 1920, p. 116.

(43) SALM HORTSMAR. — Cité par A. OLARU.

(44) LIEBIG. — *Magazine der Pharmacie*, t. 16, p. 124.

(45) MALAGUTI et DUROCHER. — *Ann. Chim. et Phys.*, 1858, (3), t. 54, p. 257.

(46) MARCELET. — Cité par Ch. RICHTER, *Dict. de Physiol.* 1925, t. 10, 2^e fasc., p. 573.

(47) P. PICHARD. — *C. R. Ac. Sc.*, 1898, t. 126, p. 1883.

(48) F. JADIN et A. A. ASTRUC. — *C. R. Ac. Sc.*, 1912, t. 155, p. 406 et *Journ. Pharm. Chim.* (7), 1913, t. 7, p. 155.

(49) J. ZELLNER. — *Monatshefte für Chemie*, 1919, t. 40, p. 294.

(50) G. BERTRAND et Mme M. ROSENBLATT. — *C. R. Ac. Sc.*, 1921, t. 173, p. 333.

(51) M. GARNIER. — Thèse Pharmacie, Nancy, 1928.

Cet élément, qui ne se retrouve qu'en quantités très réduites, joue cependant dans les végétaux un rôle catalytique de tout premier ordre. BERTRAND a mis en lumière son importance capitale dans l'action oxydante de la laccase dont l'activité est subordonnée à la présence du métal. Cette diastase fut retrouvée par cet auteur dans un grand nombre de Phanérogames (52) grâce à la coloration bleue que prend le suc cellulaire par addition de teinture de résine de gaïac.

BOURQUELOT et BERTRAND (53) ont pu mettre aussi ce ferment en évidence dans beaucoup de Champignons; ils ont remarqué que, parmi les espèces à chapeau, celles du genre *Russula* renfermaient toutes la laccase (aucune exception sur 18 espèces examinées) ; dans le genre *Lactarius*, très voisin du précédent, la présence de l'oxydase est à peu près constante (sur 20 plantes, seuls *L. mitissimus* et *L. subdulcis* fournirent des résultats négatifs) ; des espèces d'autres genres, au contraire, en seraient toutes privées ; ces auteurs ont alors pensé qu'il existerait peut-être une certaine relation entre la présence de ce ferment, ou son absence, et les affinités botaniques. Celui-ci ne serait pas toujours également répandu dans toutes les parties du Champignon et souvent même se trouverait localisé dans certaines régions. De plus, une espèce à l'état jeune ne renfermerait pas cette diastase mais en contiendrait à une période plus avancée.

Cette oxydase, ainsi que BERTRAND (54) l'avait remarqué, ne serait pas étrangère au bleuissement de certains Champignons au contact de l'air et, selon lui,

(52) G. BERTRAND. — *C. R. Ac. Sc.*, 1895, t. 121, p. 166.

(53) E. BOURQUELOT et G. BERTRAND. — *C. R. Ac. Sc.*, 1895, t. 121, p. 783.

(54) G. BERTRAND. — *Bull. Soc. Chim.* (4), t. 27, p. 454.

les six facteurs suivants seraient nécessaires : laccase, manganèse, oxygène, bolétol, eau et un métal alcalin, alcalino-terreux ou magnésium.

Le dosage du manganèse dans les Champignons nous a permis d'établir le tableau suivant :

Noms des Champignons	Mn pour 10 ⁵ de	
	matières sèches	cendres
<i>Claviceps purpurea</i> Fr.	3,67	125,4
<i>Morchella esculenta</i> B.	4,04	44,4
<i>Clavaria aurea</i> Sch.	4,25	35,2
— <i>cinerea</i> B.	5,25	65,6
<i>Hydnum imbricatum</i> L.	1,25	18,2
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr. . . .	12,35	100,0
<i>Polyporus fomentarius</i> Fr. . .	4,84	283,0
— <i>officinalis</i> Vill.	0,20	10,4
<i>Boletus edulis</i> B.	5,17	74,9
— <i>bovinus</i> Kr.	2,37	31,6
— <i>granulatus</i> L.	1,20	20,2
<i>Amanita verna</i> Fr.	9,80	90,3
— <i>pantherina</i> D. C.	11,13	66,8
— <i>muscaria</i> L.	4,28	41,1
— <i>caesarea</i> Scop.	3,25	38,8
— <i>rubescens</i> Fr.	1,87	16,8
— <i>citrina</i> Sch.	1,54	13,3
— <i>vaginata</i> B.	1,72	12,9
— <i>phalloides</i> Fr.	1,37	9,9
— <i>ovoidea</i> B.	0,67	6,2
<i>Tricholoma personatum</i> Fr. . .	5,69	55,2
<i>Lactarius uvidus</i> Fr.	3,07	35,5
— <i>deliciosus</i> L.	1,88	26,5
<i>Russula adusta</i> Pers.	6,00	68,5
— <i>emetica</i> Fr.	1,70	30,3
— <i>Queletii</i> Fr.	2,09	25,7
— <i>nauseosa</i> Pers.	2,36	24,8
— <i>delica</i> Fr.	0,93	11,3
<i>Pleurotus olearius</i> Fr.	2,05	29,5
<i>Marasmius oreades</i> Bolt. . . .	5,69	97,0
<i>Pholiota spectabilis</i> Fr. . . .	3,65	35,2
<i>Paxillus panuoides</i> Fr.	0,53	13,9
<i>Psalliota campestris</i> L.	2,24	15,2
<i>Coprinus micaceus</i> B.	2,37	19,9
<i>Geaster hygrometricus</i> Pers. .	14,28	457,7

En conclusion, le manganèse a été décelé dans toutes les espèces examinées ; dans les Champignons, comme dans les Phanérogames et les Cryptogames vasculaires, cet élément existe à l'état normal.

La proportion de ce métal oscille entre 0,20 (*Polyporus officinalis*) et 14,28 (*Geaster hygrometricus*) pour 10^5 parties de végétal desséché, soit dans le rapport de 1 à 71 ; dans les cendres, les variations ont lieu entre 6,2 (*Amanita ovoidea*) et 457,7 (*Geaster hygrometricus*) pour 10^5 , et ces valeurs extrêmes sont entr'elles dans la proportion de 1 à 73. Le manganèse représente donc, par sa teneur dans le Champignon sec ou dans ses cendres, un élément fort variable.

Le dosage du manganèse dans une espèce : *Morchella esculenta* nous a fourni des résultats (matière sèche : 4,04 ; cendres : 44,4) très voisins de ceux qui furent trouvés antérieurement par JADIN et ASTRUC (matière sèche : 4,45 ; cendres, 44,0). Cependant, nous avons observé, entre des échantillons d'une même espèce de provenances diverses, quelques différences ; bien souvent, les valeurs indiquées dans le tableau résultent de la moyenne de plusieurs analyses.

La richesse en manganèse peut varier considérablement entre les espèces d'un même genre ; ainsi le taux s'échelonne pour les Amanites de 6,2 à 90,3 pour 10^5 de cendres. Mais beaucoup plus frappante est la différence qui existe entre les deux Polypores : *P. fomentarius*, très riche, renferme 283,0 mg de ce métal dans 100 gr. de ses cendres, alors que *P. officinalis*, proche parent du précédent, n'en possède que 10,4. Des conclusions semblables avaient été faites par JADIN et ASTRUC à propos des végétaux supérieurs ; ils avaient remarqué que si, quelquefois, des espèces voi-

sines renfermaient des quantités de manganèse à peu près identiques, souvent de très grandes différences pouvaient être notées entre des plantes appartenant à un même genre ou à une même famille.

Contrairement à l'hypothèse de GARNIER, la coloration des Champignons ne semble pas liée à leur richesse en manganèse. En effet, si les trois espèces : *Amanita ovoidea* (6,2), *Polyporus officinalis* (10,4) et *Russula delica* (11,3) sont à la fois des champignons blancs et très pauvres en ce métal, *Amanita verna* (90,3), tout aussi blanc que les précédents, est beaucoup plus riche qu'un grand nombre d'espèces intensément colorées ; d'autre part, des individus colorés tels *Amanita phalloides* (9,90) et *Amanita citrina* (13,3) peuvent aussi renfermer de faibles quantités de manganèse.

Enfin, remarquons que les espèces des genres *Russula* et *Lactarius* ne se caractérisent pas par une teneur anormale en ce métal, bien que la présence de la laccase y soit constante.

Lorsqu'on se reporte au tableau établi par JADIN et ASTRUC, on constate que les plantes examinées contiennent de 0,14 mg (*Pyrus Malus*, fruit.) à 76,50 mg. (*Pedicularis silvatica*) pour 100 gr. d'organes desséchés, et de 4,23 mg. (*Solanum tuberosum*) à 909,09 (*Abies pectinata*, sciure) pour 100 gr. de leurs cendres. On peut, à l'aide du tableau suivant, comparer la répartition du manganèse dans les végétaux examinés par ces auteurs, avec le résultat de nos recherches.

Mn pour 10 ⁵ de cendres	JADIN et ASTRUC 81 plantes	35 Champignons
inférieur à 10	6	2
10 à 50	43	22
50 à 100	15	7
100 et plus	17	4

La répartition du manganèse dans les Champignons est donc sensiblement la même que dans les végétaux supérieurs.

RÉSUMÉ

Au début de notre étude nous avons fait un exposé aussi clair que possible des travaux connus jusqu'à ce jour sur la composition minérale des Champignons. Relativement peu nombreuses, ces recherches s'attachent à déterminer le taux des cendres et la répartition dans celles-ci des différents éléments chimiques, mais, nous avons vu quelle erreur on commettait en faisant les dosages après calcination du végétal, l'élément intéressant ne se retrouvant pas toujours dans son intégrité ; d'autre part, on appliquait des méthodes imprécises qui ne pouvaient donner des résultats exacts. Pour les éléments catalytiques, la difficulté était d'un autre ordre : la microanalyse, nécessaire en ce cas, était encore bien récente et n'avait pas eu suffisamment d'applications en chimie végétale.

Enfin, si de très intéressants travaux ont paru ces dernières années, mettant au point des méthodes précises et des techniques strictement appropriées à chaque cas, ils se rapportaient presque tous aux végétaux supérieurs ; l'étude des Champignons était à peine

esquissée et nous paraissait pour cela d'autant plus attirante.

Nous avons exposé en détails les remarques curieuses qui nous ont amené à établir notamment une étude d'ensemble du chlore dans les Champignons.

Notre deuxième partie résume les techniques proposées pour détruire la matière organique. Celle qui nous a semblé préférable est l'incinération qui, dans certaines conditions, permet d'obtenir une liqueur renfermant intégralement le phosphore, le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le manganèse. Le soufre sera transformé en sulfate dans une oxydation nitrique et le chlore sera dosé au moyen d'une technique qui l'insolubilise au cours de la destruction des substances organiques.

Pour chacun de ces corps, nous avons indiqué des modes de dosage variés, nous avons souligné les qualités de rapidité et d'exactitude de certaines méthodes qui nous ont paru supérieures aux autres et que nous avons adoptées.

La dernière partie de notre travail a été consacrée à l'exposé de nos résultats et nous en avons tiré diverses conclusions :

1° Le taux de cendres fourni par les Champignons est extrêmement variable d'une espèce à l'autre, mais semble assez constant pour les divers individus d'une même espèce.

2° Tous les éléments recherchés : soufre, phosphore, chlore, sodium, potassium, calcium, magnésium, manganèse ont été retrouvés dans tous les échantillons examinés.

3° Les Champignons sont riches en soufre ; il s'y trouve dans des limites plus larges que dans les végétaux supérieurs. Ils sont également riches en phospho-

re et comparables, par cela même, aux graines, tubercules et organes jeunes de Phanérogames, sièges d'une activité cellulaire intense.

Quant au rapport S/P, généralement supérieur à 0,30 dans les plantes à chlorophylle, il prend une valeur moindre et devient plus variable dans les Champignons.

4° Le dosage du chlore nous a permis de confirmer les résultats déjà obtenus pour certains genres et nous avons vu que les Amanites ont une teneur particulièrement élevée en chlore ; d'autre part, nous avons pu déceler la présence de cet anion dans les genres *Russula* et *Lactarius*, genres dans lesquels on n'avait pu le mettre en évidence.

5° Nos recherches nous ont permis d'établir, par comparaison avec tous les végétaux, la richesse exceptionnelle des Champignons en sodium ; de même, le potassium se trouve ici en quantité très forte et, de ce fait, le rapport K/Na devient très faible en même temps qu'il reste presque invariable, tandis qu'il oscille dans de larges limites chez les Phanérogames.

6° A l'état de traces dans certaines espèces, le calcium représente pour d'autres le quart des cendres et prend même parfois des valeurs plus élevées. Par contre, le magnésium se trouve toujours dans des proportions beaucoup plus stables ainsi que dans les autres végétaux. Le rapport des deux anions se ressent des diverses valeurs du calcium et présente des variations considérables.

7° Les Champignons ont une teneur en manganèse comparable à celle des autres végétaux et cet « infiniment petit chimique » ne caractérise jamais ni une espèce, ni un genre.

Afin de mieux comparer les proportions dans lesquelles interviennent, en général, les différents corps, nous avons rassemblé dans un tableau les valeurs extrêmes de leur pourcentage dans le végétal sec ou dans les cendres (1). Nous ferons le rapport de ces chiffres limites, traduisant ainsi, de manière évidente, les variations de certains éléments et la stabilité des autres.

Le travail que nous présentons aujourd'hui ne doit pas être considéré isolément, mais rapproché d'autres recherches également entreprises dans le laboratoire de chimie analytique sous la direction de Monsieur le Professeur MOUSSERON. Le rôle du zinc dans les Champignons a été étudié par FAUROUX qui s'est attaché à montrer le rapport de cet anion avec les pouvoirs nucléolytique et hémolytique des cryptogames. Certains éléments catalytiques, encore mal connus, font l'objet d'études nouvelles qui compléteront les résultats précédents et l'ensemble des travaux permettra certainement de tirer des conclusions intéressantes.

(1) Nous avons éliminé volontairement les pourcentages par trop anormaux rencontrés dans certaines espèces pour que notre tableau montre, avec plus de réalité, la valeur moyenne de la composition des champignons.

	Matières sèches.			Cendres		
	Valeurs pour cent (1)		Rapport Max./Min.	Valeurs pour cent (1)		Rapport Max./Min.
	Min.	Max.		Min.	Max.	
S	0,03	0,89	30	4,92	18,20	3,6
P	0,30	1,22	4	0,64	19,34	32
Cl	0,02	2,07	103	3,78	11,35	3
Na	0,18	1,00	5,5	29,35	52,17	1,7
K	0,81	4,93	6	0,10	28,74	287
Ca	0,01	1,35	135	0,71	8,74	12
Mg	0,06	0,18	3	6,2	457,7	73
Mn	0,20	14,28	71			
S/P	0,17	5,23	31	0,17	5,23	31
K/Na	2,96	12,38	4,1	2,96	12,38	4,1
Ca/Mg	0,06	17,38	290	0,06	17,38	290

(1) Sauf pour Mn dont le taux est exprimé pour 10⁵.

En ma qualité de Censeur de
tour, j'ai lu la thèse ayant pour
titre:

Etude de la répartition
de quelques éléments
dans les Champignons »

par R. GRANGER

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.

Montpellier, le 30 novembre 1934.

Le Professeur,

M. MOUSSERON.

Vu:

Montpellier, le 30 novembre 1934.

Le Doyen,

D^r H. FONZES-DIACON.

Vu et permis d'imprimer:

Montpellier, le 1^{er} décembre 1934.

Le Recteur,

C. TAILLIART.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
Chapitre premier. — HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LA RÉPARTITION DES ELEMENTS CHIMIQUES DANS LES CHAMPIGNONS	19
Recherches qualitatives	19
Cendres	20
Dosage des éléments plastiques	26
Dosage des éléments catalytiques	30
Variations avec l'âge	37
Chapitre II. — TECHNIQUE ANALYTIQUE	39
Première partie. — <i>Destruction de la matière organique et mise en solution des éléments</i>	40
A) Cations: sodium, potassium, calcium, magnésium et manganèse	41
B) Anions:	
I. — Chlore	42
II. — Soufre	44
III. — Phosphore	46

Deuxième partie. — <i>Méthodes de dosage des éléments</i> . . .	49
I. — Dosage du soufre	49
II. — Dosage du phosphore	51
III. — Dosage du chlore	54
IV. — Dosage du sodium	57
V. — Dosage du potassium	61
VI. — Dosage du calcium	62
VII. — Dosage du magnésium	64
VIII. — Dosage du manganèse	66
Troisième partie. — <i>Technique générale</i>	70
I. — Obtention des produits secs	70
II. — Obtention des cendres	71
III. — Dosage du phosphore, sodium, potassium, calcium et magnésium	72
1° Mise en solution	72
2° Dosage du phosphore et du sodium	72
3° Dosage du calcium, du magnésium et du potassium	75
IV. — Dosage du soufre	78
V. — Dosage du chlore	79
VI. — Microdosage du manganèse	80
Chapitre III. — <i>Etude analytique comparée des champignons et des végétaux supérieurs</i>	82
I. — Cendres	85
II. — Soufre. Phosphore. Rapport S/P	89
III. — Chlore	93
IV. — Sodium. Potassium. Rapport K/Na	97
V. — Calcium. Magnésium. Rapport Ca/Mg	107
VI. — Manganèse	114
RÉSUMÉ	121

